



Universidad
Carlos III de Madrid
www.uc3m.es

TESIS DOCTORAL

Diseño, caracterización y comportamiento en servicio de materiales basados en Ácido Poliláctico (PLA) con potencial utilidad en el empaquetado de alimentos

Autor:

Edwin Ariel Segura González

Director/es:

Dr. Francisco Javier González Benito

Dra. Dania Olmos Díaz

**DEPARTAMENTO DE CIENCIA E INGENIERÍA DE MATERIALES E
INGENIERÍA QUÍMICA**

Leganés, Febrero de 2016



Universidad
Carlos III de Madrid
www.uc3m.es

TESIS DOCTORAL

Diseño, caracterización y comportamiento en servicio de materiales basados en Ácido Poliláctico (PLA) con potencial utilidad en el empaquetado de alimentos

Autor: Edwin Ariel Segura González

Director/es: Dr. Francisco Javier González Benito

Dra. Dania Olmos Díaz

Firma del Tribunal Calificador:

Firma

Presidente: José Ramón Isasi Allica

Vocal: Silvia González Prolongo

Secretario: Miguel Ángel Martínez Casanova

Calificación:

Leganés, 3 de Febrero de 2016

Esta Tesis Doctoral ha sido realizada gracias a la Universidad Carlos III de Madrid, al Ministerio de Educación y Competitividad y ha sido financiada por los proyectos MAT2010-16815 y MAT2014-59116-C2-1-R y por el Programa de Becas Doctorales y Postdoctorales 2005-2010 de la Secretaria Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación (SENACYT) de la República de Panamá.

Gracias al Departamento de Nutrición, Bromatología y Tecnología de los Alimentos de la Universidad Complutense de Madrid, al Departamento de Bioingeniería e Ingeniería Aeroespacial de la Universidad Carlos III de Madrid y al Departamento de Química y Edafología de la Universidad de Navarra ha sido posible acceder a medios y recursos de investigación que han facilitado un trabajo más completo.

A MI MAMÁ

Agradecimientos

En primer lugar, quiero agradecer al Departamento de Ciencia e Ingeniería de Materiales e Ingeniería Química de la Universidad Carlos III de Madrid por haberme facilitado el espacio, equipos y materiales para la elaboración de este trabajo así como a su personal.

Segundo, a mis directores de tesis el Dr. Francisco Javier González Benito y la Dra. Dania Olmos Díaz por compartir conmigo sus conocimientos, su dedicación constante, su ayuda y cabe mencionar, su gran paciencia conmigo.

También me gustaría agradecer al Dr. Gustavo González Gaitano de la Universidad de Navarra, la Dra. Belén Orgaz de la Universidad Complutense de Madrid y en especial a Angélica Corral García y el Dr. José Luis Jorcano del Departamento de Bioingeniería e Ingeniería Aeroespacial de la Universidad Carlos III de Madrid por todo su apoyo y tiempo dispensado.

Sin embargo, mi mayor agradecimiento se lo dedico a mi madre “*Angela*”, mi media naranja, la persona que más amo en mi vida, a ti, muchas gracias mamá. A mi padre Eugenio, eres único papá, mi hermanito, el mejor hermano del mundo como te quiero, a mi dulce abuelita y también mi mamá “*Mima*”, y a toda mi amada familia que siempre me han brindado todo su apoyo.

Por otro lado, quiero agradecer muy cariñosamente a mis compatriotas, el pueblo panameño, porque gracias a ellos y ellas y con el pago de sus impuestos, he podido estudiar con un beca panameña.

Y no me puedo olvidar de Antonio, has sido un pilar y agradeceré siempre el haberte conocido.

Y por último, a mis amigos, GRACIAS.



En este trabajo se han preparado y caracterizado materiales nanocompuestos formados por la mezcla de nanorellenos de caolín o dióxido de titanio con una matriz polimérica termoplástica, Poli ácido láctico, PLA. El motivo por el cual se estudian estos materiales es su atractivo en relación a su potencialidad en el uso para aplicaciones agroalimentarias. Para ello, se prepararon materiales nanocompuestos termoplásticos dispersando nanopartículas mediante dos métodos: a) molienda de bolas de alta energía (HEBM) y, b) disolución y evaporación del disolvente “solvent-casting”. Finalmente, los materiales definitivos se prepararon en forma de películas mediante presión caliente.

Este trabajo tiene como objetivo principal entender la influencia de la presencia de nanopartículas en las propiedades del PLA y las propiedades y prestaciones de los materiales nanocompuestos preparados. Para ello, entre otras cosas, los resultados obtenidos de la caracterización físico-química de los materiales se correlacionaron con sus propiedades termo-mecánicas finales así como su comportamiento en servicio frente al crecimiento de biofilms en su superficie.

Los materiales utilizados en esta investigación son: Ácido Poliláctico (PLA), nanopartículas de Caolín ($\text{Al}_4\text{Si}_4\text{O}_{10}(\text{OH})_8$) y de Dióxido de titanio (TiO_2) para obtener nanocompuestos de PLA/Caolín y PLA/ TiO_2 de diferente composición. Las composiciones estudiadas de los materiales compuestos de PLA/Caolín en tanto por ciento en peso fueron de 0% y 20% y para para el sistema PLA/ TiO_2 de 0%, 1%, 5%, 10% y 20%, en este último caso con dos tamaños de partículas (~ 21 y ~ 100 nm), respectivamente.

Mediante espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier con reflectancia total atenuada (FTIR-ATR) y difracción de rayos X (XRD) se estudió la estructura de los materiales, mientras que por microscopía de fuerza atómica (AFM) y microscopía electrónica de barrido (SEM) se estudió la morfología de los materiales compuestos.

Además, se estudiaron las propiedades mecánicas de los materiales PLA/TiO₂, analizándose el efecto de la presencia y porcentaje de TiO₂ añadido. Las mejoras en las propiedades mecánicas del PLA se atribuyeron a un efecto de refuerzo de las nanopartículas, al menos para composiciones hasta el 5% en peso de nanopartículas pues se observó que para composiciones del 10% y 20% dichas propiedades eran inferiores. Además se observó una contribución favorable al disminuir tamaño o diámetro medio de las nanopartículas. En concreto, la presencia de TiO₂ a bajo contenidos y menor tamaño de partículas estudiado (~ 21 nm de diámetro) incrementa la resistencia del material a la fractura. Una posible explicación sería un efecto reforzante debido a la transferencia de cargas de las partículas de TiO₂, favorecido por una mayor relación superficie-volumen de las nanopartículas y una dispersión uniforme de las mismas que depende a su vez de su buena distribución y orientación en el interior de la matriz polimérica.

También se estudiaron transiciones térmicas durante los procesos de cristalización en frío (durante el calentamiento), fusión, cristalización (durante el enfriamiento) y termodegradación de los materiales mediante ensayos dinámicos utilizando calorimetría diferencial de barrido (DSC) y análisis termogravimétrico (TGA).

Para estudiar el proceso de cristalización se consideró el segundo barrido de calentamiento y el contenido y tamaño de partículas. Para los dos sistemas preparados, PLA/Caolín y PLA/TiO₂ la temperatura de transición vítrea del PLA no presentó cambios significativos respecto al polímero puro sin partículas por lo que se pudo concluir que dichos rellenos no parecen influir en la movilidad o dinámica macromolecular del PLA, al menos en estado vítreo y a temperaturas cercanas a la de transición vítrea. Sin embargo, al estudiar los procesos de fusión y cristalización si se pudieron apreciar algunos cambios. Por ejemplo, las películas de PLA y PLA/Caolín molidas en condiciones criogénicas presentan mayor cristalinidad así como las películas de PLA/TiO₂. Además, un mayor tamaño de nanopartícula de TiO₂ parece contribuir favorablemente a la generación de cristales de PLA.



Por otra parte, se realizaron estudios sobre desarrollo de biofilms o biopelículas sobre la superficie de las películas preparadas. En el sistema PLA/Caolín se observó que el proceso de molienda es el factor que más afecta en el desarrollo de las biopelículas más que la propia presencia de caolín. En general, independientemente del nanorelleno empleado (caolín o TiO_2), parece que cuando existe una estructura polimérica más ordenada hay una mayor proliferación bacteriana. En concreto, los cambios en el desarrollo de biopelículas en este tipo de materiales parecen ser debidos a cambios en sus propiedades superficiales inducidas por variaciones estructurales.

Por último, se estudió a escala molecular el efecto que ejerce la presencia de las nanopartículas de TiO_2 en la dinámica del PLA. El seguimiento de los procesos de relajación se realizó mediante la espectroscopia de correlación en dos dimensiones (2D) haciendo uso de la espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier en la región del infrarrojo cercano (FT-NIR). Las transiciones térmicas asociadas a la transición vítrea ($T_g \sim 64^\circ\text{C}$) y la cristalización en frío ($T_{cc} \sim 123^\circ\text{C}$) fueron claramente identificadas a partir del análisis de la absorbancia integrada de los diferentes modos vibracionales del PLA analizados. La correlación 2D se realizó en función del contenido en nanopartículas de TiO_2 (0, 1, 5 y 10%) a tres temperaturas (30, 82 y 170°C), respectivamente. Se observó un aumento aproximado de 10°C en la temperatura de transición vítrea de las muestras con un 1% en peso de nanopartículas de TiO_2 . Los resultados parecen indicar la existencia de una restricción en el movimiento de la cadena de PLA en presencia de las nanopartículas de TiO_2 , que podría ser debido a las interacciones específicas encontradas entre los grupos carbonilo del polímero y las nanopartículas. Similares resultados fueron observados para los diferentes tamaños de partículas.

In this work nanocomposite materials based on a thermoplastic polymeric matrix, Polylactic Acid (PLA), filled with kaolin or titanium dioxide were prepared and characterized. The reason lies in their potential applications in agroalimentary industry. Nanocomposites were prepared by dispersing the nanoparticles in the polymer matrix using the following methods: a) high energy ball milling (HEBM), and b) solution and solvent evaporation "*solvent-casting*". Lastly, the final materials are obtained in the form of films by hot pressing.

The aim of this work is to understand the influence of the presence of different nanoparticles in the final properties of PLA and PLA nanocomposites. The results obtained of the physico-chemical characterization of materials were correlated with their thermo-mechanical properties.

The materials selected for this research were: Polylactic Acid (PLA), kaolin ($\text{Al}_4\text{Si}_4\text{O}_{10}(\text{OH})_8$) and titanium dioxide nanoparticles, TiO_2 , to obtain binary systems based on the mixture of PLA/Kaolin and PLA/ TiO_2 with different composition. The composition selected for PLA/Kaolin systems was 20% (weight percent of kaolin particles) and for PLA/ TiO_2 systems were 0%, 1%, 5%, 10% and 20% (weight percent of TiO_2 particles) using in this case two TiO_2 particle sizes (21 and <100 nm).

The structural analysis of the materials was carried out by means of Fourier transform infrared spectroscopy by attenuated total reflectance (FTIR-ATR) and X-ray diffraction (XRD) whereas atomic force microscopy (AFM) and scanning electron microscopy (SEM) were used to study the morphology of the composite materials.

In addition, mechanical properties of the nanocomposites PLA/ TiO_2 were studied analyzing the effects due to the presence of the nanoparticles as well as their content. The improved mechanical properties observed in PLA films were ascribed to a reinforcing effect due to the presence TiO_2 nanoparticles, at least for loads up to 5% (%wt/wt). However, for higher loads (10% and 20% of TiO_2 , weight percentage) mechanical properties of PLA tend to be lower. These results suggest that low content

of TiO₂ and small particle size (21 nm) increases the materials resistance to fracture favored by a higher surface to volume ratio of nanoparticles, i.e., an increase in the reinforcing effect through charge transfer TiO₂ particles is achieved. This result may be attributed to a uniform dispersion of the particles that depends on the good distribution and particle orientation in the polymer matrix.

The thermal transitions of materials were determined by cold crystallization (heating), melting, crystallization (cooling) processes and thermal degradation from dynamic experiments run by differential scanning microscopy (DSC) and thermogravimetric analysis (TGA).

To study the crystallization process the second heating scan was considered and the effects exerted by the presence of the nanoparticles (i.e., particle content) and their size were considered. For PLA/Kaolin and PLA/TiO₂ samples, the glass transition temperature did not show significant changes, suggesting that the presence of the particles does not seem to influence the dynamics and mobility macromolecular of PLA, at least in glassy state or at temperatures close to the glass transition. However, some changes were observed in the melting and crystallization processes. For example, PLA and PLA/Kaolin films milled under cryogenic conditions showed a higher crystallinity as well as PLA/TiO₂ films. This increase is greater in PLA/TiO₂ films with higher particle size (~ 100 nm) and larger particle content.

Additionally, studies on biofilm development on the surface of the films prepared were performed. For the PLA/Kaolin films it seems that the milling process is the main factor affecting the development of the biofilm, even more than the sole presence of kaolin particles.

In general, irrespectively of the nanofillers used (kaolin or TiO₂), it seems that when there is a more ordered structure in the polymer matrix, there is a greater bacterial growth, i.e., changes in the development of biofilms on these materials appear to be due to changes in the surface properties induced by structural variations.

Finally, a study at molecular scale of the effect exerted by the presence of TiO₂ nanoparticles as well as their particle size in the molecular dynamics of PLA was studied. These experiments were carried out by means of Fourier transform infrared spectroscopy in the near infrared region (FT-NIR) and using correlation spectroscopy in two dimensions (2D) to obtain additional information of the systems under study. Thermal transitions associated with the glass transition temperature ($T_g \sim 64\text{ }^{\circ}\text{C}$) and cold crystallization temperature ($T_{cc} \sim 123\text{ }^{\circ}\text{C}$) were clearly identified from analysis of integrated absorbance of the different bands. 2D correlation was performed based on the content of nanoparticles of TiO₂ (0, 1, 5 and 10%, weight percent) at three temperatures (30, 82 and 170 $^{\circ}\text{C}$), respectively. The results suggest that the carbonyl group interacts specifically with TiO₂ nanoparticles. An increase of approximately 10 $^{\circ}\text{C}$ in the glass transition temperature for the samples with 1% of TiO₂ nanoparticles was observed. This result suggests a restriction on the movement of the chain of PLA due to the presence of TiO₂ nanoparticles, which could be caused by the specific interactions found between the carbonyl groups of the polymer and the nanoparticles. Similar results were observed when particle size of TiO₂ is analyzed.

Índice

RESUMEN	xi
ABSTRACT	xv
ÍNDICE DE FIGURAS	xxii
ÍNDICE DE TABLAS	xxviii
CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN	1-1
1.1 Materiales para el empaquetado de alimentos	1-3
1.1.1 Plásticos empleados en el empaquetado de alimentos	1-4
1.1.2 Polímeros biodegradables para el empaquetado de alimentos	1-7
1.2 Ácido Poliláctico, PLA	1-12
1.2.1 Estructura y síntesis del PLA	1-15
1.2.2 Propiedades del PLA	1-19
1.2.2.1 Propiedades ópticas	1-20
1.2.2.2 Propiedades barrera	1-20
1.2.2.3 Propiedades mecánicas	1-23
1.2.2.4 Cristalinidad y propiedades térmicas	1-24
1.2.3 Aplicaciones en el empaquetado de alimentos	1-26
1.2.4 Líneas de desarrollo y mercado actual del PLA	1-27
1.3 Materiales compuestos	1-29
1.3.1 Materiales nanocompuestos	1-30
1.3.1.1 Tipos de nanocompuestos	1-31
1.3.2 Materiales bionanocompuestos y su empleo en el empaquetado de alimentos	1-33
1.3.3 Dispersión de nanopartículas en plásticos	1-33
1.4 Silicatos laminares. Caolín	1-34
1.5 Preparación de películas (procesado de materiales) para empaquetado de alimentos	1-38
1.6 Materiales con efecto bactericida	1-40
1.6.1 Dióxido de titanio, TiO ₂	1-42
REFERENCIAS	1-46
CAPÍTULO 2: OBJETIVOS Y ESTRUCTURA DE LA TESIS DOCTORAL	2-1
2.1 Objetivo general	2-3
2.2 Objetivos específicos	2-3
2.3 Estructura de la tesis doctoral	2-3

CAPÍTULO 3: PARTE EXPERIMENTAL	3-1
3.1 Técnicas y métodos	3-3
3.1.1 Difracción de rayos X, XRD	3-3
3.1.2 Espectroscopia por transformada de Fourier mediante reflectancia total atenuada, ATR-FTIR	3-4
3.1.3 Microscopía	3-5
3.1.3.1 Microscopía electrónica de barrido, SEM	3-5
3.1.3.2 Microscopía de fuerza atómica, AFM	3-7
3.1.4 Técnicas termoanalíticas	3-8
3.1.4.1 Calorimetría diferencia de barrido, DSC	3-8
3.1.4.2 Análisis termogravimétrico, TGA	3-10
3.1.5 Análisis microbiológicos	3-10
3.1.6 Otras técnicas	3-12
3.1.6.1 Ensayos mecánicos	3-12
3.1.6.2 Molienda de bolas de alta energía, HEBM	3-13
3.2 Materiales	3-14
3.2.1 Ácido Poliláctico, PLA	3-14
3.2.2 Caolín	3-20
3.2.3 Dióxido de titanio, TiO ₂	3-25
3.2.4 Disolventes	3-27
3.2.5 Estudios microbiológicos	3-27
3.3 Preparación de muestras	3-28
3.3.1 Sistema polimérico A: PLA + Caolín	3-28
3.3.2 Sistema polimérico B: PLA + TiO ₂	3-29
REFERENCIAS	3-30

CAPÍTULO 4: SISTEMA PLA/CAOLÍN	4-1
4.1 Introducción	4-3
4.2 Parte experimental	4-4
4.2.1 Preparación de muestras	4-4
4.2.2 Métodos y técnicas instrumentales	4-9
4.2.2.1 Actividad microbiana	4-10
4.3 Resultados y discusión	4-11
4.3.1 Caracterización de materiales PLA/Caolín	4-11
4.3.2 Estudio de la respuesta de los materiales frente al desarrollo de biopelículas	4-35
4.4 Conclusiones parciales	4-37
REFERENCIAS	4-39

CAPÍTULO 5: SISTEMA PLA/TiO₂: PROPIEDADES Y COMPORTAMIENTO EN SERVICIO	5-1
5.1 Introducción	5-3
5.2 Parte experimental	5-6
5.2.1 Preparación de muestras	5-6

5.2.2 Métodos y técnicas instrumentales	5-9
5.2.2.1 Actividad microbiana	5-10
5.3 Resultados y discusión	5-14
5.3.1 Caracterización estructural de materiales PLA/TiO ₂	5-14
5.3.2 Caracterización térmica	5-18
5.3.3 Caracterización mecánica	5-25
5.3.4 Estudio del comportamiento bacteriano	5-30
5.4 Conclusiones parciales	5-41
REFERENCIAS	5-43

CAPÍTULO 6: SISTEMA PLA/TiO₂: ESTUDIO ESTRUCTURAL Y EVALUACIÓN DE LA DINÁMICA DEL PLA EN MATERIALES NANOCOMPUESTOS PLA/TiO₂	6-1
6.1 Introducción	6-3
6.2 Parte experimental	6-7
6.1.1 Preparación de muestras	6-7
6.1.2 Métodos y técnicas instrumentales	6-7
6.1.2.1 Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier en la región del infrarrojo cercano, FT-NIR	6-8
6.3 Resultados y discusión	6-8
6.4 Conclusiones parciales	6-29
REFERENCIAS	6-31

CAPÍTULO 7: CONCLUSIONES	7-1
7.1 Conclusiones	7-3

ANEXOS

Índice de Figuras

Figura 1.1.-	Producción mundial de materiales plásticos (Fuente: Plastics Europe, 2013 [6]).....	1-4
Figura 1.2.-	Gestión de eliminación de residuos de polímeros (Adaptada de Scott 2000 [16]).....	1-6
Figura 1.3.-	Clasificación de polímeros biodegradables (Adaptada a Bordes, Pollet y Avérous 2009 [29,30]).....	1-9
Figura 1.4.-	Capacidad de producción mundial de biopolímeros (Fuente: European Bioplastics- Institute of Bioplastics and Biocomposites, 2013 [33]).....	1-10
Figura 1.5.-	Ejemplos de materiales a base de PLA usados como envases de alimentos.....	1-13
Figura 1.6.-	Ciclo de vida del PLA (Adaptada de NatureWorks LLC, [40,57-59]).....	1-15
Figura 1.7.-	Estructura química de los isómeros de ácido láctico (Adaptada de Sin, 2013 [40,42,50,67,68]).....	1-16
Figura 1.8.-	Pasos para la producción de PLA por la polimerización por condensación directa y polimerización por apertura de anillo (Adaptada de Vink, 2003 [50,62,67,69]).....	1-17
Figura 1.9.-	Estructura química de los estereoisómeros de lactida [39,63,70].....	1-18
Figura 1.10.-	Unidad repetitiva de la molécula de PLA [40,48,65,71].....	1-19
Figura 1.11.-	Esquema de posibles interacciones entre el alimento, el envase y el entorno (Adaptada de Vivek, 1997 [83]).....	1-21
Figura 1.12.-	Tipos de materiales compuestos basados en la interacción polímeros-silicatos laminares [133].....	1-32
Figura 1.13.-	Estructura idealizada de silicatos laminares tipo a) 2:1 y, b) 1:1 [20,145].....	1-36
Figura 1.14.-	Estructura de la fase rutilo y anatasa del TiO ₂ [167,172].....	1-44
Figura 3.1.-	Esquema de preparación de muestras para su observación por difracción de rayos X [3].....	3-4
Figura 3.2.-	Dimensiones utilizadas en la preparación de las probetas de tracción.....	3-12
Figura 3.3.-	Molino mezclador MM400 de RETSCH empleado en la preparación de muestras por molienda criogénica.....	3-14
Figura 3.4.-	Difractograma de Rayos X del PLA de partida.....	3-15
Figura 3.5.-	Detalles del espectro infrarrojo medio del PLA de partida en dos regiones distintas.....	3-16
Figura 3.6.-	Detalles del espectro infrarrojo cercano del PLA de partida.....	3-18
Figura 3.7.-	Curva de DSC del PLA de partida correspondiente al segundo barrido de calentamiento.....	3-19

Figura 3.8.-	Termograma (TGA, en verde) y curvas de análisis térmico diferencial (ATD, en rojo) mostrando el flujo de calor suministrado en función de la temperatura y la derivada del termograma (DTGA, en azul) para el PLA puro entre 30-800 °C a 10 °C/min.....	3-19
Figura 3.9.-	Difractograma de rayos X del caolín de partida.....	3-20
Figura 3.10.-	(a) y (b) Espectro del infrarrojo medio del caolín de partida en dos regiones distintas.....	3-21
Figura 3.11.-	Micrografías de SEM del caolín de partida obtenidas a: (a) 6500, (b) 20000 aumentos.....	3-23
Figura 3.12.-	Curva típica de pérdida de masa en función de la temperatura (TGA) junto con la curva derivada (DTGA) en un intervalo de temperatura comprendido entre 30-1000 °C a 10 °C/min para el caolín de partida.....	3-24
Figura 3.13.-	Difractograma de rayos X de (a) $\text{TiO}_2 \sim 21 \text{ nm}$ y (b) $\text{TiO}_2 < 100 \text{ nm}$	3-25
Figura 4.1.-	Ácido poliláctico de partida (PLA).....	4-5
Figura 4.2.-	Esquema de preparación de los materiales bajo estudio.....	4-7
Figura 4.3.-	Ejemplo de los materiales preparados en forma de películas. (PLA-F, polímero puro; PLA-M1KF, PLA con caolín 1 h de molienda mecánica a temperatura ambiente; PLA-M2KF, PLA con caolín 2 h de molienda mecánica a temperatura ambiente y PLA-C1KF, PLA con caolín 1 h de molienda criogénica).....	4-7
Figura 4.4.-	Difractogramas de rayos X de: a) caolín; b) caolín molido durante 1 h; c) caolín molido durante 2 h y; d) caolín molido durante 1 h en condiciones criogénicas.....	4-12
Figura 4.5.-	Difractogramas de rayos X del PLA obtenidos en función de las condiciones de procesado: (a) en forma de polvos y (b) en forma de películas.....	4-13
Figura 4.6.-	Difractogramas de rayos X de los materiales compuestos PLA/caolín obtenidos en función de las condiciones de procesado para las muestras en forma de: (a) polvos y (b) películas. (Nota: Los difractogramas del PLA y caolín de partida se han incluido con fines comparativos).....	4-15
Figura 4.7.-	Espectro ATR-FTIR de muestras de caolín en dos regiones diferentes.....	4-17
Figura 4.8.-	Espectro ATR-FTIR de PLA sometido a diferentes tratamientos en forma de: (a) polvos y (b) películas.....	4-19
Figura 4.9.-	Espectro ATR-FTIR de PLA y materiales nanocompuestos de PLA-caolín sometido a diferentes tratamientos: (a) polvos y (b) películas.....	4-20
Figura 4.10.-	Micrografías obtenidas por SEM con el detector de electrones retrodispersados (BSE) de muestras de PLA rellenas con caolín (20 % wt/wt) en forma de polvos: a) HEBM 1 h, b) HEBM 2 h, c) HEBM 1 h en condiciones criogénicas y en forma de películas: d) HEBM 1 h, e) HEBM 2 h y, f) HEBM 1 h en condiciones criogénicas.....	4-22

Figura 4.11.-	Curvas de DSC obtenidas en el segundo calentamiento a 20 °C/min para las muestras molidas en forma de polvos correspondientes a: PLA y, b) PLA/Caolín para cada una de las condiciones de procesamiento estudiadas.....	4-24
Figura 4.12.-	Curvas de DSC obtenidas en el segundo calentamiento a 20 °C/min para las muestras en forma de películas correspondientes a: a) PLA y, b) PLA/Caolín para cada una de las condiciones de procesamiento estudiadas.....	4-27
Figura 4.13.-	Análisis termogravimétrico (TGA) de las muestras de caolín molidas en diferentes condiciones de procesamiento de la a) curva de variación de porcentaje en peso con la temperatura (TGA) y, b) DTGA – primera derivada del porcentaje peso con la temperatura.....	4-31
Figura 4.14.-	Análisis termogravimétrico (TGA) de las muestras de PLA molidas en diferentes condiciones de procesamiento de a) curva de variación de porcentaje en peso con la temperatura y, b) DTGA - primera derivada del porcentaje peso con la temperatura.....	4-31
Figura 4.15.-	Análisis termogravimétrico (TGA) de las muestras nanocompuestos de PLA de a) curva de variación de porcentaje en peso con la temperatura y, b) DTGA - primera derivada del porcentaje peso con la temperatura.....	4-32
Figura 4.16.-	Análisis termogravimétrico (TGA) de películas nanocompuestos de PLA de a) curva de variación de porcentaje en peso con la temperatura y, b) DTGA - primera derivada del porcentaje peso con la temperatura.....	4-33
Figura 4.17.-	Imágenes de altura de AFM para las muestras PLA-F, PLA-C1F y PLA-C1KF expuestas a cultivos de <i>Pseudomonas fluorescens</i>	4-36
Figura 5.1.-	Ejemplo de pre-película de PLA/TiO ₂	5-7
Figura 5.2.-	Películas de PLA de 10 x 10 cm rellenas con diferentes contenidos de nanopartículas de TiO ₂ : a) 0%, b) 1%, c) 5%, d) 10% y e) 20% en peso.....	5-8
Figura 5.3.-	Imágenes de probetas de tracción de PLA y materiales nanocompuestos PLA/TiO ₂ con diferentes porcentajes de relleno: a) tamaño de partículas < 100 nm y b) tamaño de partículas 21 nm.....	5-10
Figura 5.4.-	Ejemplo de crecimiento de bacteria DH5α TM mediante el método de Kirby Bauer en películas de PLA (control) y nanocompuestos de PLA a 1%, 5%, 10% y 20% de TiO ₂	5-13
Figura 5.5.-	Ejemplo de una fotografía donde se muestra la región de PLA puro, la región de biofilm de bacterias y la región de agar donde las bacterias no han crecido.....	5-14
Figura 5.6.-	Difractogramas de rayos X de: a) PLA-0; b) PLA/TiO ₂ -100-1; c) PLA/TiO ₂ -100-5; d) PLA/TiO ₂ -100-10; e) PLA/TiO ₂ -100-20 y; f) TiO ₂ -100.....	5-15
Figura 5.7.-	Difractogramas de rayos X de: a) PLA-0; b) PLA/TiO ₂ -21-1; c) PLA/TiO ₂ -21-5; d) PLA/TiO ₂ -21-10; e) PLATiO ₂ -21-20 y; f) TiO ₂ -21.....	5-15

Figura 5.8.-	Espectros ATR-FTIR para los materiales nanocompuestos de PLA/TiO ₂ bajo estudio: a) diámetro medio de nanopartículas <100 nm y b) diámetro medio de nanopartículas 21 nm.....	5-17
Figura 5.9.-	Curva de DSC obtenida para las películas de PLA y PLA/TiO ₂ en el segundo calentamiento a 20 °C/min con tamaños de partículas de: a) 100 nm y b) 21nm. (1) Transición vítrea, (2) Cristalización en frío y, (3) Fusión.....	5-19
Figura 5.10.-	Análisis térmico de películas de PLA y PLA/TiO ₂ con tamaño de partículas de 100 nm de a) curva de variación de porcentaje en peso con la temperatura y b) DTGA - primera derivada del porcentaje peso con la temperatura.....	5-22
Figura 5.11.-	Análisis térmico de películas de PLA y PLA/TiO ₂ con tamaño de partículas de 21 nm de a) curva de variación de porcentaje en peso con la temperatura y b) DTGA - primera derivada del porcentaje peso con la temperatura.....	5-24
Figura 5.12.-	Curvas de tensión-deformación para todas las muestras a 2 mm/min.....	5-26
Figura 5.13.-	Módulo de Young de PLA y nanocompuestos de PLA/TiO ₂ con diferentes porcentajes y tamaños de partículas: a) TiO ₂ -100 y, b) TiO ₂ -21.....	5-27
Figura 5.14.-	Tensión máxima para el PLA y nanocompuestos de PLA/TiO ₂ con diferentes porcentajes y tamaños de partículas: a) TiO ₂ -100 y, b) TiO ₂ -21.....	5-28
Figura 5.15.-	Deformación a la rotura para PLA y nanocompuestos de PLA/TiO ₂ con diferentes porcentajes y tamaños de partículas de TiO ₂ : a) 100 nm y, b) 21 nm.....	5-29
Figura 5.16.-	Imágenes de SEM obtenidas mediante electrones secundarios (SE): a) PLA-0, b) PLA/TiO ₂ -21-1, c) PLA/TiO ₂ -21-5, d) PLA/TiO ₂ -21-10 y, e) PLA/TiO ₂ -21-20.....	5-32
Figura 5.17.-	Imágenes de SEM obtenidas mediante electrones secundarios (SE): a) PLA-0, b) PLA/TiO ₂ -100-1, c) PLA/TiO ₂ -100-5, d) PLA/TiO ₂ -100-10 y, e) PLA/TiO ₂ -100-20.....	5-33
Figura 5.18.-	Imágenes de SEM a distintos aumentos del biofilm generado sobre una superficie de PLA puro (PLA-0).....	5-35
Figura 5.19.-	De arriba abajo filas de imágenes a distintos aumentos: 50 ×; 2000 ×; 5000 × y 8000 × de los materiales nanocompuestos PLA/TiO ₂ (φ ~ 21 nm) a distintas composiciones en tanto por ciento en peso de nanopartículas: a) 1%; b) 5%; c) 10% y d) 20%.....	5-36
Figura 5.20.-	De arriba abajo filas de imágenes a distintos aumentos: 50 ×; 2000 ×; 5000 × y 8000 × de los materiales nanocompuestos PLA/TiO ₂ (φ ~ 100 nm) a distintas composiciones en tanto por ciento en peso de nanopartículas: a) 1%; b) 5%; c) 10% y d) 20%.....	5-37
Figura 5.21.-	Morfología de bacterias en función de material sobre el que se desarrollan: a) PLA puro; b) PLA con nanopartículas de TiO ₂ con φ ~ 21 nm y c) PLA con nanopartículas de TiO ₂ con φ ~ 100 nm.....	5-38
Figura 5.22.-	Fotografías asociadas a las interfases sin bacterias.....	5-39

Figura 5.23.-	Distancia de inhibición en experimentos de Kirby-Bauer en función del porcentaje de nanopartículas de TiO ₂ tanto para las 21 nm como para las de 100 nm de diámetro.....	5-40
Figura 6.1.-	a) Espectro en la región del infrarrojo cercano para PLA bajo diferentes temperaturas y b) espectro obtenido de la sustracción entre el espectro a una determinada temperatura y el espectro a temperatura ambiente.....	6-9
Figura 6.2.-	Diagramas de correlación de espectros 2D para el PLA en la región de 4830-4410 cm ⁻¹ en función de la temperatura: a) síncrono y b) asíncrono.....	6-13
Figura 6.3.-	a) Diagrama de la absorbancia integrada en función de la temperatura y b) el primer momento $\langle \nu \rangle$, en función de la temperatura para las bandas 4770 y 4725 cm ⁻¹ para el PLA. (Nota: los cálculos se realizaron considerando ambas bandas como una banda única).....	6-15
Figura 6.4.-	a) Diagrama de la absorbancia integrada en función de la temperatura y b) el primer momento, $\langle \nu \rangle$, en función de la temperatura para la banda 4438 cm ⁻¹ para el PLA.....	6-17
Figura 6.5.-	Diagramas de la absorbancia integrada con la temperatura del PLA para las bandas localizadas a: a) 4307 cm ⁻¹ y b) 4255 cm ⁻¹	6-18
Figura 6.6.-	Diagramas de correlación de espectros 2D para el PLA a una temperatura de 82 °C en la región del NIR entre 4490-4330 cm ⁻¹ en función del contenido de TiO ₂ con tamaño de nanopartículas < 100 nm: a) síncrono y b) asíncrono.....	6-20
Figura 6.7.-	Diagramas de correlación de espectros 2D para el PLA a una temperatura de 82 °C en la región del NIR entre 4830-4410 cm ⁻¹ en función del contenido de TiO ₂ con tamaño de nanopartículas < 100 nm: a) síncrono y b) asíncrono.....	6-21
Figura 6.8.-	Diagramas de correlación de espectros 2D para el PLA a una temperatura de 82 °C en la región del NIR entre 4830-4330 cm ⁻¹ en función del contenido de TiO ₂ con tamaño de nanopartículas < 100 nm: a) síncrono y b) asíncrono.....	6-22
Figura 6.9.-	Absorbancia integrada en función de la temperatura para las bandas: a) 4770 y 4725 cm ⁻¹ , b) 4438 cm ⁻¹ , c) 4307 cm ⁻¹ y d) 4255 cm ⁻¹ para todos los sistemas bajo estudio (0, 1, 5 y 10% en peso de TiO ₂ con tamaño de nanopartículas < 100 nm).....	6-23
Figura 6.10.-	Diagramas de correlación de espectros 2D para el PLA a una temperatura de 82 °C en la región del NIR entre 4490-4330 cm ⁻¹ en función del contenido de TiO ₂ con tamaño de nanopartículas de 21 nm: a) síncrono y b) asíncrono.....	6-25
Figura 6.11.-	Diagramas de correlación de espectros 2D para el PLA a una temperatura de 82 °C en la región del NIR entre 4830-4410 cm ⁻¹ en función del contenido de TiO ₂ con tamaño de nanopartículas de 21 nm: a) síncrono y b) asíncrono.....	6-26

- Figura 6.12.-** Diagramas de correlación de espectros 2D para el PLA a una temperatura de 82 °C en la región del NIR entre 4830-4330 cm^{-1} en función del contenido de TiO_2 con tamaño de nanopartículas de 21 nm: a) síncrono y b) asíncrono.....6-27
- Figura 6.13.-** Absorbancia integrada en función de la temperatura para las bandas: a) 4770 y 4725 cm^{-1} , b) 4438 cm^{-1} , c) 4307 cm^{-1} y d) 4255 cm^{-1} para todos los sistemas bajo estudio (0, 1, 5 y 10% en peso de TiO_2 con tamaño de nanopartículas de 21 nm).....6-28

Índice de Tablas

Tabla 1.1.-	Materiales plásticos derivados del petróleo utilizados en el empaquetado de alimentos [10].....	1-5
Tabla 3.1.-	Asignación de bandas del PLA de partida en la región del MIR (v ₁ se refiere a la vibración, ν a la vibración de tensión, δ a la vibración de flexión, r balanceo) [28,32-34].....	3-16
Tabla 3.2.-	Asignación de bandas de combinación para el PLA de partida en el NIR.....	3-17
Tabla 3.3.-	Asignación de bandas en la región del FT-MIR del caolín [3,40-43].....	3-22
Tabla 3.4.-	Asignación de picos de difracción de rayos X de TiO ₂	3-27
Tabla 4.1.-	Códigos y condiciones de preparación de los materiales estudiados.....	4-8
Tabla 4.2.-	Espesor de las películas de PLA de partida y nanocompuestos de PLA-caolín.....	4-9
Tabla 4.3.-	Porcentaje de cristalinidad de las muestras analizadas.....	4-16
Tabla 4.4.-	Temperaturas de transición vítrea, cristalización y fusión, entalpías de cristalización en frío, entalpía de fusión y fracción cristalina generada en frío y fracción cristalina real para las muestras de PLA y PLA/Caolín en forma de polvos.....	4-25
Tabla 4.5.-	Temperaturas de transición vítrea, cristalización y fusión, entalpías de cristalización en frío, entalpía de fusión y fracción cristalina generada en frío y fracción cristalina real para las muestras de PLA y PLA/Caolín en forma de películas.....	4-28
Tabla 4.6.-	Temperaturas características de la descomposición térmica de las muestras con o sin caolín, determinadas por TGA.....	4-33
Tabla 5.1.-	Espesor de las películas de PLA de partida y nanocompuestos de PLA/TiO ₂	5-8
Tabla 5.2.-	Códigos, porcentajes de relleno y condiciones de preparación de las películas estudiadas.....	5-9
Tabla 5.3.-	Porcentaje de cristalinidad de las muestras de PLA, TiO ₂ y nanocompuestos de PLA/TiO ₂	5-16
Tabla 5.4.-	Temperaturas de transición vítrea, cristalización y fusión, entalpías de cristalización en frío, entalpía de fusión y fracción cristalina generada en frío y fracción cristalina real para las muestras de PLA-0 y PLA/TiO ₂ en forma de películas.....	5-21
Tabla 5.5.-	Temperaturas características de la descomposición térmica de las muestras estudiadas, determinadas por TGA.....	5-25
Tabla 5.6.-	Propiedades mecánicas extraídas de curvas de la Figura 5.12 para las muestras de PLA y PLA/TiO ₂	5-26
Tabla 6.1.-	Tabla de bandas de combinación vibracional de Ácido Poliláctico, PLA.....	6-11
Tabla 6.2.-	Orden secuencial de la regla de Noda cuando $\nu_1 > \nu_2$	6-12

Capítulo 1

Introducción

1.1 Materiales para el empaquetado de alimentos	1-3
1.1.1 Plásticos empleados en el empaquetado de alimentos	1-4
1.1.2 Polímeros biodegradables para el empaquetado de alimentos	1-7
1.2 Ácido Poliláctico, PLA	1-12
1.2.1 Estructura y síntesis del PLA	1-15
1.2.2 Propiedades del PLA	1-19
1.2.2.1 Propiedades ópticas	1-20
1.2.2.2 Propiedades barrera	1-20
1.2.2.3 Propiedades mecánicas	1-23
1.2.2.4 Cristalinidad y propiedades térmicas	1-24
1.2.3 Aplicaciones en el empaquetado de alimentos	1-26
1.2.4 Líneas de desarrollo y mercado actual del PLA	1-27
1.3 Materiales compuestos	1-29
1.3.1 Materiales nanocompuestos	1-30
1.3.1.1 Tipos de nanocompuestos	1-31
1.3.2 Materiales bionanocompuestos y su empleo en el empaquetado de alimentos	1-33
1.3.3 Dispersión de nanopartículas en plásticos	1-33
1.4 Silicatos laminares. Caolín	1-34
1.5 Preparación de películas (procesado de materiales) para empaquetado de alimentos	1-38
1.6 Materiales con efecto bactericida	1-40
1.6.1 Dióxido de titanio, TiO ₂	1-42
REFERENCIAS	1-46



1.1.- Materiales para el empaquetado de alimentos

Hoy en día, casi cualquier producto que consumimos se comercializa envasado y no solo con el fin de proteger y contener alimentos o bebidas, sino también por facilitar la información concerniente al producto como por ejemplo: la fecha de caducidad, el modo de conservación y contenido nutricional, etc. Sin embargo, la preocupación de los consumidores por su salud interesándose por conocer qué alimentos puede consumir sin riesgo de contaminación se ha visto incrementada en los últimos años, viéndose reflejada en el campo de la seguridad alimentaria en la búsqueda de nuevos envases que atraigan al consumidor facilitándoles la máxima información sobre el alimento y en especial que el envase ayude a evitar su deterioro rápido, conservando sus propiedades, su calidad organoléptica intacta y que cumplan los estándares mínimos de higiene [1–3].

Por otra parte, las propiedades y características sensoriales de los alimentos dependen del valor nutritivo, es decir, de su contenido nutricional, que se degrada a una velocidad considerable por la acción enzimática o de microorganismos, reacciones de oxidación o bien pérdida de agua entre otros y que a la vez se ven afectados por el sistema de almacenamiento y transporte. Por lo tanto, los envases de alimentos cumplen funciones importantes, principalmente la de extender la vida útil de los alimentos procesados asegurando la calidad de los mismos protegiéndolos de su deterioro por la acción de agentes físicos, químicos, microbiológicos, evitar la pérdida de características deseables del producto (aroma, sabor, etc.) y su posible adulteración, garantizando de esta manera la trazabilidad de los materiales utilizados, lo que otorga un grado de seguridad alimentaria al poder saber el origen de sus materias primas [4].

Por otro lado, estos materiales también buscan atraer la atención de los consumidores en otros sentidos como la estética e imagen que se le suelen dar a los envases [5], la información del material del que está fabricado el envase, su tipo de reciclabilidad y donde debe ser desechado el envase una vez que ha cumplido su ciclo de vida útil y de esta forma minimizar la generación de residuos. Por ejemplo, en la industria de

empaquetado de alimentos, los materiales más empleados son los plásticos superando ampliamente a otros materiales como el cartón, vidrio o cerámicos, debido a que ofrecen prácticas aplicaciones. En esta industria, los envases plásticos, representan una demanda del 40% en Europa [6]. Los productos que más lo emplean son la leche UHT/larga duración, las bebidas alcohólicas y no alcohólicas. Por su parte, la normativa de la Unión Europea para materiales destinados a estar en contacto con alimentos, establece que determinados productos fabricados con plásticos reciclados pueden ser adecuados solamente para el contacto con alimentos específicos y en determinadas condiciones [7].

1.1.1.- Plásticos empleados en el empaquetado de alimentos

En la producción industrial de termoplásticos o de envases conocidos como “comodities”, se encuentran los materiales poliméricos derivados del petróleo como el polietileno (PE), polipropileno (PP), poliestireno (PS), poli(tereftalato de etileno) (PET), poli(cloruro de vinilo) (PVC) [8,9], que constituyen una parte fundamental de la economía europea, con un crecimiento continuo de su producción durante más de 50 años, siendo en 2013 de 299 millones de toneladas, lo que significa un aumento del 3,9% en comparación con 2012. Europa es, después de China, el mayor productor mundial y España concentra una demanda del 7,5% alcanzando el tercer lugar en Europa (figura 1.1) [6]. La Tabla 1.1 ilustra los materiales plásticos más utilizados en la fabricación de envases de alimentos.

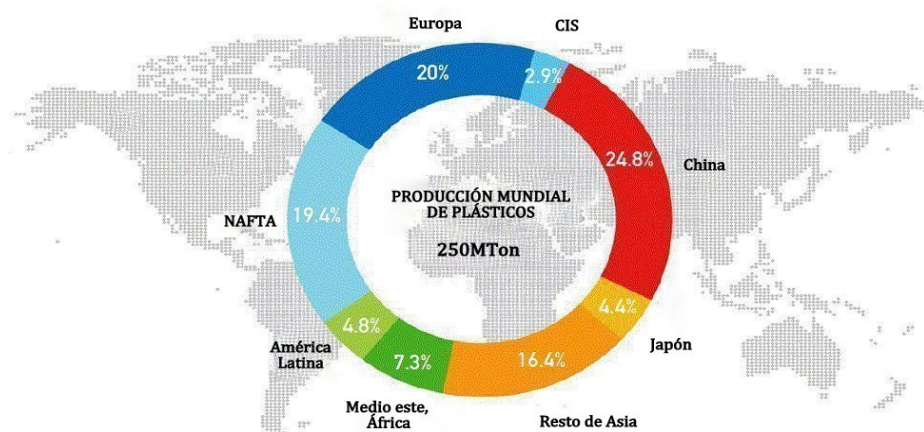


Figura 1.1.- Producción mundial de materiales plásticos (Fuente: Plastics Europe, 2013 [6]).



Tabla 1.1.- Materiales plásticos derivados del petróleo utilizados en el empaquetado de alimentos [10].

Material	Abreviatura	Aplicaciones
Poliestireno	PS	Bandejas, tarrinas, vasos, platos
Poli(cloruro de vinilo)	PVC	Películas flexibles (films, bandejas)
Poli(tereftalato de etileno)	PET	Botellas, bandejas
Polietileno de alta densidad	PEBD	Películas, bolsas
Polietileno de baja densidad	PEAD	Botellas, bandejas
Polipropileno	PP	Películas flexibles (bandejas, bolsas, botellas)
Otros	Policarbonatos, resinas epoxi, etc.	

Sin embargo, la presencia continua de estos materiales en la vida cotidiana se debe a sus numerosas ventajas sobre otros (vidrio, metal, madera, etc.) siendo incluso capaces de sustituirlos en sectores como el de la construcción, automoción, industria alimenticia y aeronáutica entre otros. Estas otras ventajas cabe destacar: su disponibilidad a gran escala, ligereza, durabilidad, relativo bajo coste, su gran versatilidad debida principalmente a la posibilidad de poder añadir al polímero distintos tipos de aditivos (ejemplos: antioxidantes, plastificantes, colorantes o estabilizantes) que modifiquen sus propiedades y a las relativamente buenas propiedades de barrera, además de contribuir a la reducción de impacto medioambiental pues se pueden recuperar al final de su vida útil, en forma de energía o como nuevos materiales [11].

Por otro lado, en la industria alimenticia, farmacéutica o biomédica la adición de aditivos para la conformación de un envase, es un factor preocupante por los posibles efectos adversos que puedan ocasionar en los humanos o medio ambiente. Por un lado estos aditivos pueden mejorar las propiedades y por otro, pueden contaminar los materiales y contenido de los envases. En la Unión Europea por ejemplo, se ha prohibido el uso de aditivos como los plastificantes ftalatos, por su alto potencial de toxicidad [12,13]. A la

vez, estos plásticos que son producidos a partir de recursos fósiles y provocan un importante impacto medioambiental al no ser biodegradables, desprender gases en su degradación térmica causantes de efecto invernadero y el calentamiento global y además su baja biodegradabilidad puede generar gran daño a la fauna [14], dando lugar a acumulación de residuos que causan serios problemas de contaminación y sanitarios ya que gran porcentaje de estos residuos no se llegan a reciclar ni recuperar energéticamente. En Europa, de los 25 millones de toneladas de residuos producidos, solo el 26% es reciclado, 36% recuperado en forma de energía y el 38% va a parar directamente a los vertederos [6,14]. Sin embargo, del porcentaje recuperado como energía por medio de la incineración de estos residuos, trae el problema de producir gases tóxicos procedentes de la combustión como las dioxinas [15]. En la Figura 1.2 se resumen algunas alternativas sobre la gestión de eliminación de residuos en vertederos.

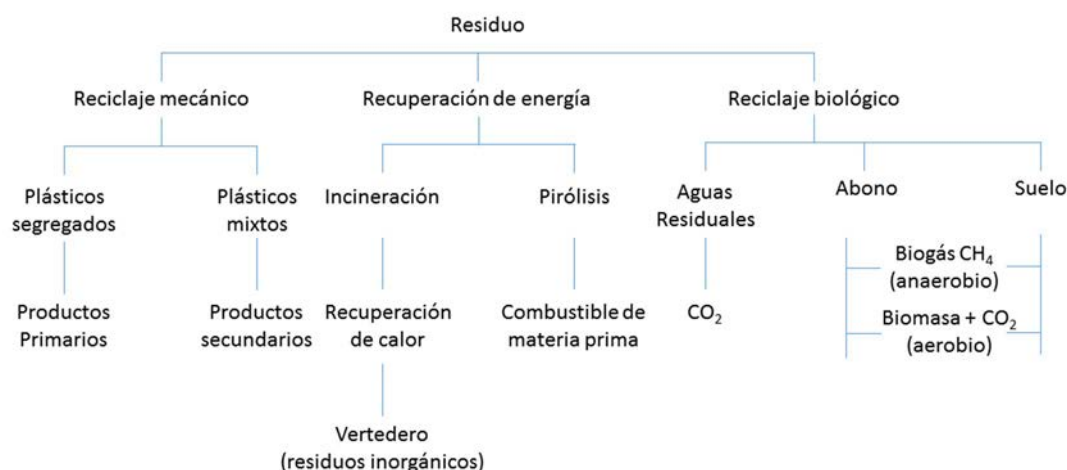


Figura 1.2.- Gestión de eliminación de residuos de polímeros (Adaptada de Scott 2000 [16]).

La incineración como una forma de recuperación de energía es a primera vista la forma ecológicamente más aceptable por la generación de combustibles a partir de residuos de polímeros debido a su alto valor calorífico, sin embargo, presenta un serio problema por la gran cantidad de emisión de CO₂ y otros gases a la atmósfera [16].



De aquí la siguiente pregunta: ¿Cómo solucionar los problemas ocasionados por la contaminación de estos materiales? A pesar de existir una política europea de reducir, reutilizar y reciclar, en muchos países aún no existen los recursos y directrices medioambientales necesarios, además de la falta de interés y concienciación, la realidad es que estos materiales definidos como no biodegradables son ampliamente utilizados, lo que significa que el problema persistirá [17].

Es por eso, que la investigación y el desarrollo tecnológico a través de estudios de métodos de fabricación de nuevos materiales renovables o biodegradables, debe ser impulsado por los gobiernos, con el fin de reemplazar materiales convencionales y producir materiales respetuosos con el medio ambiente, que se descompongan de forma natural en un corto período de tiempo por la acción de microorganismos (biodegradables) y que sean económicamente viables. A estos materiales se les denominan “bioplásticos”, que significa que tienen un origen natural renovable u origen “bio” debido a que provienen de las plantas, animales y/o microorganismos [18], es decir que no se obtienen a partir del petróleo. En términos generales, el prefijo “bio” significa que se deriva de la biomasa, por ello se les conoce como agropolímeros al ser producidos a partir de productos agrícolas (patatas, trigo, maíz, remolacha, caña de azúcar) y en menor medida a partir de los bosques. Por su parte, un “producto bio” sería aquél que proviene total o parcialmente de la biomasa y/o es biodegradable [18–20].

1.1.2.- Polímeros biodegradables para el empaquetado de alimentos

La gran diversidad y sofisticación de los materiales utilizados actualmente por la biotecnología es un testimonio de los importantes avances tecnológicos que han ocurrido en los últimos años. Desde el principio de la ciencia de los materiales, el desarrollo de materiales altamente estables ha sido un reto importante de investigación que ha conseguido llamar la atención de la sociedad participando con una actitud cada vez más proactiva hacia la reducción del impacto medioambiental producido por los envases alimentarios. Es por ello, que para el desarrollo de polímeros compatibles con

el medioambiente, es esencial comprender que la naturaleza genera gran variedad de biomateriales, que pueden ser utilizados por los humanos [21].

Por su parte, los polímeros biodegradables son aquellos capaces de descomponerse en moléculas simples como el dióxido de carbono, metano, agua, compuestos inorgánicos y biomasa mediante la acción enzimática de microorganismos formando abono el cual puede utilizarse para acondicionar terrenos pobres [22,23]. En la actualidad, muchos materiales biodegradables obtenidos a partir de recursos derivados del petróleo también son bioplásticos como por ejemplo la policaprolactona (PCL) [24,25], sin embargo, algunos bioplásticos son renovables pero no biodegradables, en este caso se conocen el biopolietileno (bio-PE), bio-polietileno tereftalato (bio-PET) y biopolipropileno (bio-PP) producidos a partir del bioetanol [20]. Entre los materiales biodegradables se suelen tener en cuenta cuatro grupos según su composición química, origen y método de síntesis, siendo solo tres (a, b y c) los obtenidos a partir de recursos renovables:

- a) El primer grupo incluye los polímeros extraídos de la biomasa como los polisacáridos, pectinas, quitosano, carragenina, almidón (trigo, maíz, patatas), celulosa, proteínas y lípidos, de animales, la caseína, el suero, colágeno/gelatina y de las plantas la soja y el gluten.
- b) El segundo grupo se obtiene mediante la síntesis química clásica utilizando monómeros derivados de la biomasa para producir polímeros biodegradables como el ácido poliláctico (PLA).
- c) El tercer grupo corresponde a polímeros generados a partir de la fermentación natural o por bacterias genéticamente modificadas tales como el poli(hidroxialcanoato) (PHA) y poli(hidroxibutirato) (PHB).
- d) En el cuarto grupo, los polímeros son obtenidos por síntesis química a partir de recursos fósiles como por ejemplo la poli(ϵ -caprolactona) (PCL), Succinato de polibutileno (PBS), poli(trimetileno tereftalato) (PTT) [16,26–29]. En la Figura 1.3 se ilustran algunos polímeros biodegradables.

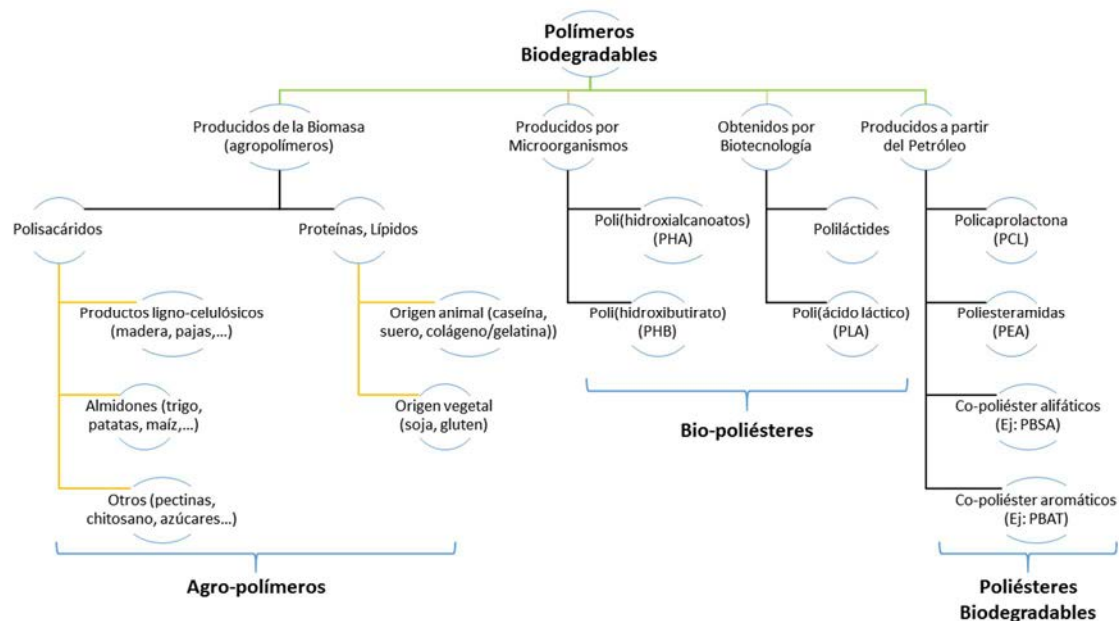


Figura 1.3.- Clasificación de polímeros biodegradables (Adaptada a Bordes, Pollet y Avérous 2009 [29,30]).

Se pueden clasificar estos polímeros biodegradables en dos grandes familias, los agro-polímeros (categoría a) y los poliésteres biodegradables (categorías b, c y d), también llamados bio-poliésteres [22,29]. Por ejemplo, los poliésteres biodegradables hoy en día tienen un gran atractivo comercial por que pueden ser procesados por equipos de procesamiento convencional incluyendo el moldeo por inyección, extrusión, moldeo por soplado y termoconformado que se utilizan en particular en el envasado de alimentos y en el sector biomédico [31]. Los poliésteres juegan un papel predominante como materiales biodegradables debido a que sus enlaces éster son potencialmente hidrolizables. La familia poliéster está constituida por dos grandes grupos, poliésteres alifáticos (lineales) y poliésteres aromáticos (anillos aromáticos). Como se observa en la Figura 1.3 entre los poliésteres biodegradables que se han desarrollado comercialmente están el poli(hidroxiálcanoatos) (PHA), poli(hidroxihexanoato) (PHH), poli(hidroxibutirato) (PHB), poli(hidroxivalerato) (PHV), ácido poliláctico (PLA), policaprolactona (PCL), polibutileno de succinato (PBS), adipato de polibutileno succinato (PBSA), co-poliésteres alifáticos-aromáticos (AAC), poli(etilentereftalato) (PET), polibutileno adipatotereftalato (PBAT) y, polimetileno adipatotereftalato (PTMAT) [32]. En cuanto a la producción de bioplásticos en todo el mundo, es difícil

determinar la producción exacta y capacidades industriales. Los datos disponibles se basan principalmente en estimaciones, y ellos están en constante cambio debido al rápido crecimiento de la industria de los biopolímeros. Actualmente, el 30% de la producción mundial se utiliza en la fabricación de envases de alimentos [5]. Por otra parte, las cifras que se publican de forma más periódica corresponden a las de la Asociación Europea de Bioplásticos. La Figura 1.4 ilustra la producción mundial de biopolímeros con un 62,4% de biodegradables y un 37,6% de no biodegradables, previéndose para el año 2018 una capacidad de crecimiento del 300%.

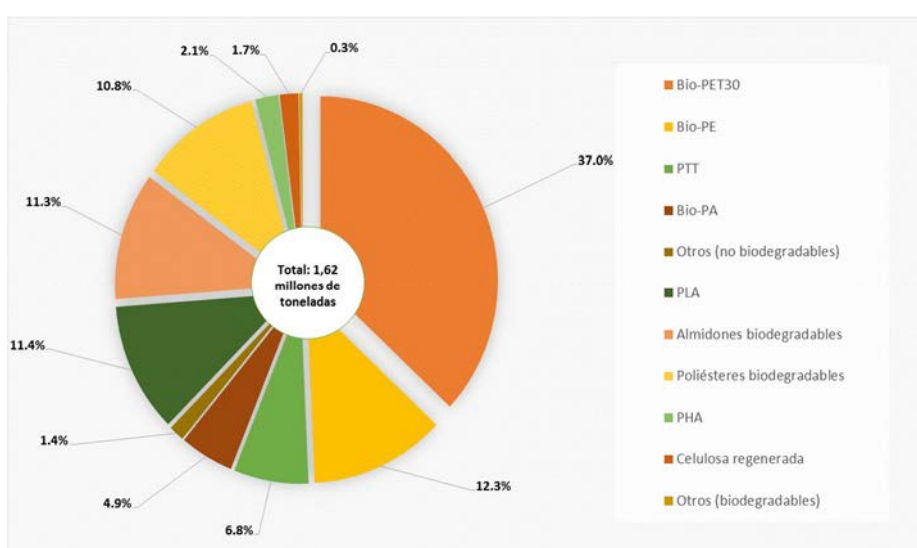


Figura 1.4.- Capacidad de producción mundial de biopolímeros (Fuente: European Bioplastics-Institute of Bioplastics and Biocomposites, 2013 [33]).

Por otra parte, el proceso de biodegradación de estos materiales depende de las condiciones ambientales (por ejemplo, la ubicación o temperatura), del propio material y su aplicación. La velocidad de biodegradación obedece principalmente a cuatro factores: la temperatura (siendo de 50 a 70 °C la temperatura ideal en la mayoría de los casos), la humedad, el número y tipo de microorganismos actuantes. La degradación sólo es rápida si se cumplen todos estos requisitos. En general, la biodegradación se produce a tasas muy bajas en una casa o en un supermercado por ejemplo, sin embargo, los polímeros biodegradables se convierten en biomasa, agua y dióxido de carbono en cerca de 6 a 12 semanas desde el procesado industrial. Por otro lado, los materiales



poliméricos elaborados a partir de productos petroquímicos con aditivos biodegradables, mejorarán su biodegradabilidad, pues esta degradación involucra algunos materiales derivados del petróleo por procesos biológicos [34]. Un ejemplo típico se puede ver en el caso de algunos poliésteres alifáticos, tales como PCL y PBS que se pueden degradar por enzimas y microorganismos [25,35]. En resumen, el carácter biodegradable de los materiales tiende a imitar el ciclo de la vida de la biomasa, es decir, la conservación de los recursos fósiles, agua y producción de dióxido de carbono.

En la actualidad, el mercado de los biopolímeros y en particular de los biopolímeros termoplásticos desempeña un papel importante en los campos de los sectores agrícolas y hortícolas (por ejemplo, las películas para invernaderos y macetas), así como aplicaciones de mayor durabilidad, tales como las capas de teléfonos móviles o de componentes interiores para automóviles. Sin embargo, los más ampliamente estudiados para aplicaciones de envases son los basados en almidón, el PE de procedencia biológica, el PLA y PHAs. De estos, el almidón y PLA son sin duda de las familias más interesantes de materiales biodegradables, ya que se encuentran disponibles a gran escala industrial y también porque presentan interesantes propiedades mecánicas, térmicas, etc., representando una alternativa adecuada para reemplazar a los polímeros convencionales derivados del petróleo [36]

La creciente demanda de estos materiales más sostenibles se refleja en el crecimiento substancial de las capacidades de producción de biopolímeros. En cuanto a los envases para alimentos, los biopolímeros se pueden emplear en alimentos producidos orgánicamente, productos de panadería, verduras y frutas, botellas para bebidas o incluso para productos de cosmética e higiene. En resumen, el uso de biopolímeros en aplicaciones de envasado de alimentos es cada vez mayor y las nuevas tecnologías para la producción de estos materiales emergen a gran rapidez. Por lo tanto, dos factores han hecho que los polímeros biodegradables sean económicamente atractivos, las preocupaciones ambientales y económicas asociadas a la eliminación de los residuos y a la intensificación en los gastos de producción de petróleo dando como resultado la disminución de las reservas más fácilmente accesibles [37]. Así mismo, dependiendo de

su uso final en la modificación o mejora de algunas propiedades de los polímeros biodegradables a través de tecnologías innovadoras, es un reto importante en la investigación de materiales ya que estos materiales, los polímeros renovables y biodegradables son considerados como el futuro de la nueva generación de materiales.

Entre todos estos materiales, el PLA, como mencionamos anteriormente, es uno de los biopolímeros mayormente usados en la actualidad. Aunque posee para algunas aplicaciones la desventaja de ser muy rígido, esta propiedad se puede reducir por adición de plastificantes como el PCL, sin embargo su baja resistencia térmica, fragilidad excesiva y barrera insuficiente a los gases y agua en comparación con otros polímeros como el PS y PET en el envasado de alimentos, suponen un inconveniente, siendo por lo tanto, de gran interés mejorar estas propiedades manteniendo al mismo tiempo sus buenas propiedades como la transparencia y biodegradabilidad, interesantes para el envasado de alimentos y que permiten su buena comercialización en forma bandejas, platos y vasos de un solo uso [25,38–40].

Por su parte, el crecimiento del uso de los materiales biodegradables depende de cuatro factores: la respuesta de los consumidores a los costes, que hoy en día son relativamente más altos que de los plásticos convencionales, sin embargo existe una tendencia a bajar; el logro total de la biodegradabilidad; una legislación que asegure su buen uso y por último la buena infraestructura para recoger, aceptar y procesar los polímeros biodegradables con el fin de eliminar los residuos. En el presente trabajo se propone aportar datos en relación a la mejora de estas propiedades para ampliar el uso de PLA en la fabricación de sistemas flexibles de empaquetado de alimentos mediante la adición de determinadas partículas de alta compatibilidad con este biopolímero.

1.2.- Ácido Poliláctico, PLA

El PLA es un poliéster alifático lineal termoplástico que fue descubierto en 1932 por Wallace Carothers, elaborando un producto de bajo peso molecular [32,37,41–43] cuyo monómero, el ácido láctico, se produce por polimerización a través de la apertura del



anillo L-lactida a través de la fermentación microbiana de recursos 100% renovables, productos agrícolas ricos en carbohidratos como el maíz, trigo, almidón, caña de azúcar y remolacha [32,44,45]. El PLA se presenta como una alternativa a los polímeros convencionales, tales como el PE, PVC, PP, PET y PS al ofrecer propiedades similares [46] además de su origen renovable, es también un polímero biodegradable y biocompatible, es decir, que no provoca reacciones adversas al ser humano, propiedad que lo hace idóneo para la fabricación de material quirúrgico, fármacos de liberación controlada, envase de alimentos, no es tóxico y tiene una elevada capacidad de procesamiento presentando excelentes propiedades mecánicas y transparencia. A pesar de su elevado coste durante las últimas décadas limitó su uso en algunas aplicaciones médicas, farmacéuticas, quirúrgicas y de empaquetado, hoy en día, las nuevas tecnologías y estrategias de producción lo han convertido en uno de los plásticos biodegradables de mayor crecimiento al reducir considerablemente su precio final elevando su disponibilidad en el mercado en aplicaciones prácticas como platos, tazas, tapas, bolsas, botellas, helados, etc., y a la vez hacerlo más respetuoso con el medio ambiente [40,41,47–49]. En la Figura 1.5 se ilustran algunos ejemplos de materiales hechos utilizando PLA.



Figura 1.5.- Ejemplos de materiales a base de PLA usados como envases de alimentos.

En general, el PLA se clasifica como un material seguro por la Agencia de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA) para aplicaciones de empaquetado de alimentos [32,48,50] y actualmente la empresa estadounidense NatureWorks® LLC es el primer productor de PLA a gran escala a nivel mundial. En 2002 puso en funcionamiento su primera planta, capaz de producir 140.000 Ton métricas al año y en 2003 creó la primera y mayor planta de fabricación de ácido láctico con una estimación de producción de 600.000 Ton para el año 2020 [51,52].

Por su parte, los envases de materiales biodegradables tras su uso, en lugar de ser desechados con el resto de materiales plásticos, pueden ser tratados junto con los residuos orgánicos, incorporándose a la corriente de biomasa [53], es decir, que el PLA después de su uso, sigue presentando ventajas, sus productos pueden ser degradados química o mecánicamente en sistemas de compostaje como abono o reciclado, incinerado para recuperar energía o por hidrólisis para recuperar ácido láctico, de esta manera se minimiza la disposición en vertederos de residuos y, siempre que se consiga llevar a cabo su recuperación, el PLA proporcionará un ciclo natural con un impacto ambiental mínimo, así como se ilustra en la Figura 1.6 [54].

La degradabilidad del PLA varía dependiendo del entorno a que se expone. En humanos o animales, se cree que el PLA se degrada principalmente por hidrólisis y los oligómeros solubles formados son metabolizados por las células [55].

Así mismo, el PLA requiere entre un 20 y 50% menos de recursos que los equivalentes materiales derivados del petróleo. Con PLA, el CO₂ es eliminado de la atmósfera al producirse a partir de las materias primas, y regresa a la tierra cuando el PLA se ha degradado. Dado que el proceso cíclico revierte carbono a la tierra a partir del CO₂ atmosférico, el PLA tiene potencial para reducir los niveles atmosféricos de CO₂ [32,56].

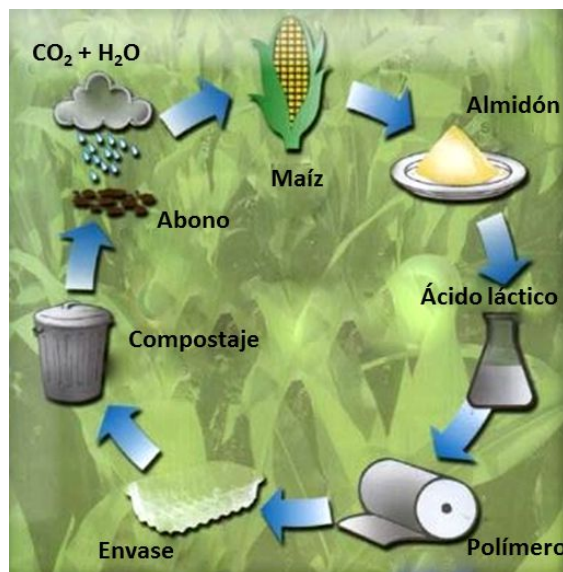


Figura 1.6.- Ciclo de vida del PLA (Adaptado de NatureWorks LLC, [40,57–59]).

1.2.1.- Estructura y síntesis del PLA

El ácido láctico fue aislado por primera vez de la leche agria por Scheele en 1780 y se comercializó en 1881 por Avery en Littleton, EE.UU [60]. Por su parte, el PLA es el producto de la esterificación del ácido láctico (ácido 2-hidroxipropiónico), donde los monómeros de partida son producidos por dos vías, por la síntesis química que se basa principalmente en la hidrólisis de lactonitrilo por ácidos fuertes [42,60] o fermentación (biotecnología), la cual abarca más del 95% del consumo mundial de ácido láctico debido al uso de recursos renovables en vez de petroquímicos [50,51,61,62]. El ácido láctico tiene una excelente reactividad y es considerado el monómero con más potencial debido a que tiene tanto un grupo carboxilo como uno hidroxilo y un carbono asimétrico en su estructura y puede sufrir una serie de conversiones químicas en productos potencialmente útiles como óxido de propileno, propilenglicol, 2,3-pentano-diona, ésteres de lactato, alanina y ácidos acrílico como el propiónico, acético y pirúvico [50,63,64].

El ácido láctico es una de las más simples moléculas quirales y que existe como dos enantiómeros, el levógiro L(+) y el dextrógiro D(-). Las formas D, L o meso ópticamente

inactivas son una mezcla equimolar 50/50 (conocida como lactida racémica) de los isómeros: D (-) y L (+) [42,50,65,66]. La estructura química de los isómeros de ácido láctico se ilustra en la Figura 1.7.

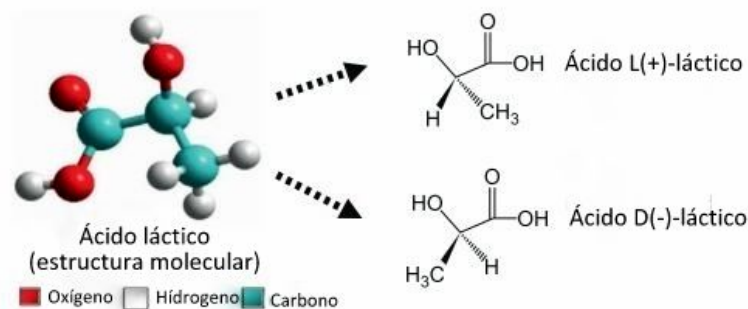


Figura 1.7.- Estructura química de los isómeros de ácido láctico (Adaptada de Sin, 2013 [40,42,50,67,68]).

Ambos enantiómeros son producidos por microorganismos como las bacterias del género “*Lactobacillus*” o bacterias del ácido láctico, al convertir la lactosa en ácido láctico y que son consideradas seguras para la producción industrial debido a su alta tolerancia ácida y por su capacidad en la producción selectiva de D-ácido láctico y L-ácido láctico [48,62]. La forma L se diferencia de la forma D en su efecto sobre la luz polarizada. Para el ácido L(+)-láctico, el plano de polarización se gira en sentido horario, mientras que la forma ácido D(-)-láctico gira el plano en sentido contrario. En contraste, el ácido láctico derivado de la fermentación existe casi exclusivamente en la forma L(+)-ácido láctico.

Muchas sustancias están involucradas en la producción del PLA. En la Figura 1.8 se ilustran las vías más comunes de producción del PLA. El ácido láctico se puede obtener a partir de la fermentación de azúcares por la polimerización por condensación directa o bien, por la vía indirecta de formación de lactida y apertura del anillo (Ring Opening Polymerization, ROP) [47,57,67].

A diferencia de la tradicional polimerización por condensación directa, que requiere el uso de disolventes, altas temperaturas, tiempos mayores de reacción y una eliminación continua de agua para obtener polímeros de bajo peso molecular con limitadas propiedades mecánicas, se ha logrado obtener mediante la utilización de un disolvente azeotrópico a baja presión, temperatura de 130 °C durante 2-3 horas y una elevada concentración de un catalizador eliminándose el agua por destilación, un polímero de elevada masa molar, sin embargo, este proceso presenta la desventaja de generar gran cantidad de residuos tóxicos [40].

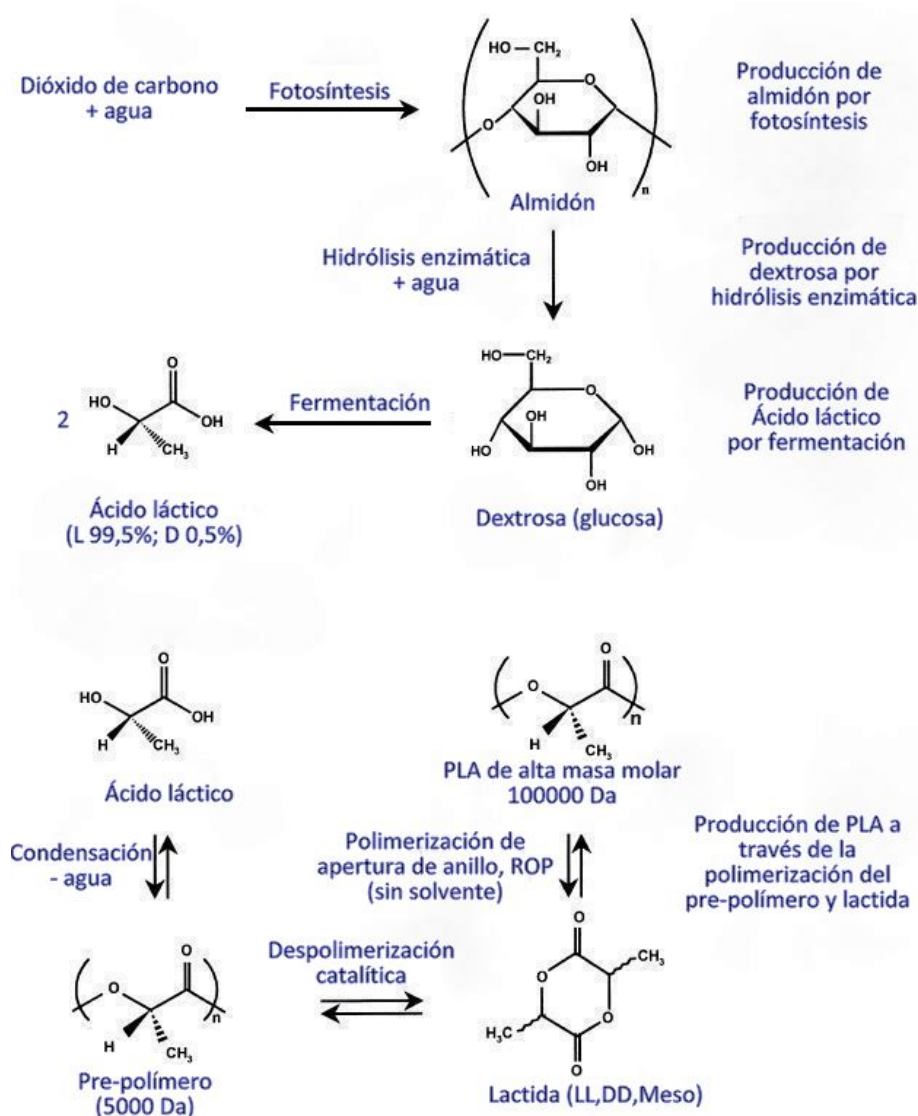


Figura 1.8.- Pasos para la producción de PLA por la polimerización por condensación directa y polimerización por apertura de anillo (Adaptada de Vink, 2003 [50,62,67,69].

Por otro lado, la vía ROP es un método (patentado por Cargill Inc. en 1992) que controla la síntesis química sin el uso de disolventes proporcionando un fácil y directo acceso a la obtención de una polilactida con alta masa molar. En este caso, primeramente se elimina el agua del proceso para producir un pre-polímero de bajo peso molecular ($M_w = 1000-5000$ Da) [65,68]. Este pre-polímero es despolimerizado catalíticamente para formar un dímero cíclico intermedio (lactida) purificado mediante un proceso de destilación al vacío, que es la etapa más costosa de ROP. La lactida es un oligómero del ácido láctico degradado por una reacción de trans-esterificación interna. Una vez purificada se polimeriza en una polimerización de apertura de anillo libre de disolvente y se procesa como granza, "*pellets*", de polilactida de alta masa molar ($M_w = \sim 100000$ Da) [40,62,69,71].

Como muestra la Figura 1.9, el ácido láctico es una molécula quiral debido a que posee cuatro grupos unidos a su átomo de carbono central, por tanto, se puede encontrar en tres diferentes estereoisómeros: D,D-lactida (llamado D-lactida), L,L-lactida (llamado L-lactida) y L,D o D,L lactida (llamado *meso*-lactida) [66].

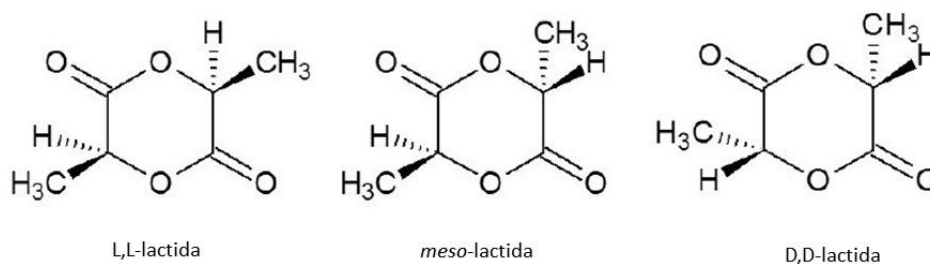


Figura 1.9.- Estructura química de los estereoisómeros de lactida [39,63,70].

Por otro lado, los polímeros con elevados niveles de L-lactida pueden ser utilizados para producir polímeros cristalinos mientras que los materiales con mayores cantidades de D-lactida son más amorfos [62]. Por lo tanto, el término "ácido poliláctico" se refiere a una familia de polímeros: poli(L-ácido láctico) (PLLA), poli(D-ácido láctico) (PDLA) y, poli(D,L-ácido láctico) (PDLLA), ópticamente puros y con una estructura

“homocristalina”, respectivamente [40,46,48,60,64]. En la Figura 1.10 se ilustra la unidad repetitiva del PLA.

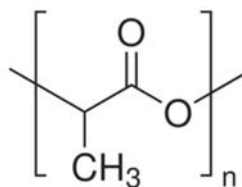


Figura 1.10.- Unidad repetitiva de la molécula de PLA [40,48,65,71].

Si comparamos la síntesis química con la producción biotecnológica de ácido láctico, esta última ofrece varias ventajas como son el bajo coste de los sustratos y el bajo consumo de energía. De esta manera, la polimerización biotecnológica ha contribuido a que el PLA sea más competitivo frente a otros polímeros derivados del petróleo. Se estima que la producción mundial de ácido láctico y PLA para el año 2020 será de 375.000 y 800.000 Ton, respectivamente [73,74].

1.2.2.- Propiedades del PLA

Las propiedades del PLA, al igual que las de otros polímeros, dependen de sus características moleculares, así como de la presencia de estructuras ordenadas, la cristalinidad, el tamaño de esferulitas, la morfología y el grado de orientación de las cadenas [30]. Por otra parte, su mayor atractivo es su biocompatibilidad al no producir efectos tóxicos o cancerígenos. Posee también mejor procesabilidad térmica que otros biopolímeros y requiere entre un 20-25% menos energía de producción que polímeros derivados del petróleo [65] y puede ser producido de una forma totalmente amorfa o con hasta un 40% de forma cristalina [30]. Sin embargo, presenta ciertas propiedades que limitan su uso, como su elevada fragilidad con menos del 10% de alargamiento a la rotura, su lenta tasa de degradación mediante hidrólisis de grupos ésteres de la cadena principal del polímero, es relativamente hidrófobo y presenta insuficientes propiedades

barrera frente al paso de gases [65]. En este apartado se analizarán las propiedades con mayor utilidad en el empaquetado de alimentos.

1.2.2.1.- Propiedades ópticas

Como mencionamos anteriormente, el PLA presenta buenas propiedades de claridad y transparencia, alto brillo y baja turbidez [75,76], criterio de gran importancia a la hora de escoger un producto por parte del consumidor.

La absorción de la luz visible y UV por polímeros es uno de los principales factores que afectan a la calidad de los alimentos. La protección de los alimentos sensibles a la luz, tales como zumos, vitaminas, productos lácteos y aceites comestibles son factores que juegan un papel relevante en el empaquetado de alimentos. Por ejemplo, se ha demostrado que la luz afecta el sabor y en menor grado el contenido nutricional de la leche [40]. Por lo tanto, el material escogido para producir un envase es crítico a la hora de minimizar los daños de los productos. Por su parte, la luz UV se subdivide en tres regiones de longitud de onda distintas: UV-A (400-315 nm), UV-B (315-280 nm) y UV-C (280-100 nm), donde la radiación UV-B es la que causa la degradación fotoquímica de la mayoría de los plásticos y se encuentra parcialmente bloqueada por la capa de ozono [40,77,78]. El PLA tiene una buena resistencia a la luz UV en contraste con otros polímeros aromáticos como el PET, que son altamente sensibles a la luz UV [75]. Por su parte, estas propiedades se ven fuertemente influenciadas por el grado de cristalinidad del polímero. Un mayor grado de cristalinidad se traduce en un menor grado de transparencia, es decir, el PLA altamente cristalino tiene limitadas propiedades ópticas [75].

1.2.2.2.- Propiedades barrera

La propiedad barrera de un polímero se refiere a su capacidad para transferir un permeante a través de él [79]. En el empaquetado de alimentos una de las características más importantes a evaluar es la capacidad que presentan algunos

materiales a la permeabilidad a vapor de agua, vapores orgánicos, líquidos y especialmente a dióxido de carbono y oxígeno desde el exterior al alimento empaquetado y viceversa, ya que influye directamente en la calidad del alimento, alterando su valor nutricional y sensorial y como consecuencia, su vida útil [5,75,80,81].

Este transporte de gases se ve influenciado por una serie de factores como la orientación y estructura del polímero, la polaridad, cristalinidad, temperatura, grado de humedad, tamaño, densidad y distribución de la fase cristalina del polímero. Estas desventajas existentes entre los envases y alimentos han conducido a realizar mayores restricciones y cuidados en la producción con el fin de garantizar la protección del consumidor [82]. Estas interacciones del envase con el entorno y el alimento ocurren en el sentido de mayor concentración a menor concentración e involucran los siguientes procesos: permeación, sorción, migración (equilibrio termodinámico) y difusión (o cinética) como se ilustra en la Figura 1.11 [79,83].

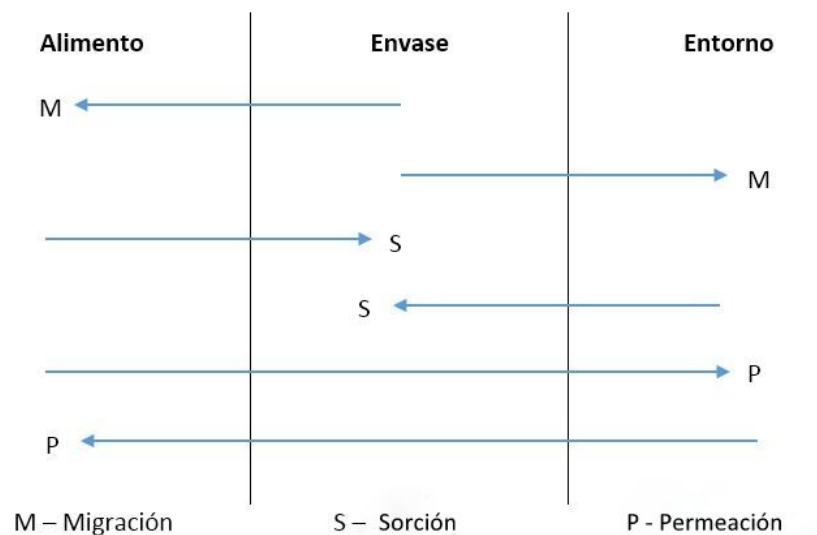


Figura 1.11.- Esquema de posibles interacciones entre el alimento, el envase y el entorno
(Adaptada de Vivek, 1997 [83]).

Los procesos de permeación corresponden al intercambio de sustancias a través de un envase entre el ambiente exterior y el interior. Los procesos de sorción corresponden a

la retención en el material del envase de sustancias presentes en el alimento mientras que la migración es el intercambio de sustancias del envase al alimento proceso de mucha importancia en el caso de envases alimentarios, donde el intercambio de moléculas de bajo peso molecular puede ser un factor limitante de la aplicación del material polimérico o una propiedad que le da valor añadido al envase. Finalmente, el fenómeno de difusión se asocia a la velocidad con la que estas sustancias atraviesan el polímero [84,85].

Por su parte, la cantidad de componentes del envase que pueden migrar al alimento (líquido o sólido) depende de las propiedades físicas y químicas de los alimentos y del polímero [79]. Dichos intercambios pueden dar origen a alteraciones en la calidad de los alimentos afectando a las propiedades físico-químicas y mecánicas incorporando sustancias tóxicas [84]. Por lo tanto, los principales factores que controlan la migración son la concentración, peso molecular, solubilidad, difusividad, coeficiente de migración entre el polímero y el alimento, tiempo, temperatura, composición de los alimentos y el polímero [84,86].

Como se mencionó anteriormente, el PLA se usa en innumerables aplicaciones para el empaquetado de alimentos y tiene mejores propiedades barrera que el PP y PE, similares al PS y ligeramente peores que el PET. Uno de los factores que más influyen en las propiedades del PLA es su cristalinidad [87]. Por lo tanto, los cambios continuos ocurridos en el polímero debido a la permeabilidad química se pueden reducir mediante cristalización parcial del PLA al disminuir el volumen de la fase amorfa generando un camino menos permeable reduciendo su coeficiente de difusión [76,81,88]. Como las regiones cristalinas están altamente ordenadas, en comparación con las regiones amorfas y por tanto el volumen libre es inferior o inexistente, las regiones cristalinas actúan como barreras impermeables para la difusión y la adsorción. Además, las regiones cristalinas dan lugar a restricciones de movilidad de la cadena polimérica en la región amorfa que también influye en el proceso de absorción en la fase amorfa limitando la eficacia de la trayectoria de difusión [72,86]. De hecho, la permeabilidad al



vapor de agua disminuye linealmente con el aumento de la cristalinidad del PLA de 0 a 50% [89].

1.2.2.3.- Propiedades mecánicas

El comportamiento de un material se puede describir por sus propiedades mecánicas, como son la resistencia a la tracción, impacto, cizallamiento, etc. El PLA tiene propiedades mecánicas similares a la de los materiales derivados del petróleo y dependen principalmente del porcentaje de cristalinidad, estructura del polímero y peso molecular. Entre estas propiedades, el PLA tiene mejor módulo de elasticidad, resistencia a tracción y flexión que el PP, PS y PE, sin embargo, la elongación a la rotura y resistencia al impacto están limitadas en comparación con el PE, PP y PET [87,90]. Así mismo, un PLA semicristalino tendrá mejores propiedades mecánicas que un polímero amorfo debido a que las regiones cristalinas ordenadas actúan como centros de alta densidad de enlaces covalentes [91]. Por ejemplo, para Anders, Mikael y otros autores, el PLA semicristalino tiene un módulo de elasticidad (E) de 2,0-4,0 GPa, una resistencia a la tracción (σ) que varía entre 50 y 70 MPa y una elongación en el punto de ruptura (ϵ) de 1-7%, dependiendo principalmente de su peso molecular, estereoquímica y grado de cristalinidad [38,68]. Por ejemplo, se ha demostrado que el módulo de elasticidad y la resistencia a tracción aumenta en un factor de 2 cuando la masa molar aumenta de 50 a 100 kDa, sin embargo, estas propiedades parecen no verse afectadas por encima de los 300 kDa [68].

Por otro lado, dependiendo las características deseadas, se puede obtener un PLA con mayor rigidez y resistencia mecánica si el contenido de L-lactida es mayor que el de D-lactida. Por otra parte, si el PLA es más amorfo resultará ser más dúctil y esa ductilidad será mayor si su T_g se encuentra próxima o inferior a la temperatura ambiente, sin embargo, la falta de ductilidad del PLA se puede mejorar con la adición de plastificantes [87,92,93].

1.2.2.4.- Cristalinidad y propiedades térmicas

La cristalización, el grado de cristalinidad y las propiedades térmicas del PLA dependen del peso molecular, de las condiciones de polimerización, la historia térmica del material y de una pureza óptica del polímero que se encuentra entre 72-75%. Por su parte, los homopolímeros PLLA y PDLA son polímeros semicristalinos debido a su pureza enantiomérica y presentan un alto grado de cristalinidad (PLLA ~70%) [47,94,95] con una temperatura de transición vítrea aproximada de 55 °C y punto de fusión cerca de los 180 °C mientras que el copolímero PDLLA es un material amorfo debido a su estructura irregular y presenta una temperatura de transición vítrea que varía entre 50 y 57 °C. Por ejemplo, para un PLA amorfo sometido a temperaturas por encima de la T_g , sus propiedades mecánicas se ven muy influenciadas debido a los cambios producidos por los movimientos de las cadenas del polímero (lo que se denomina envejecimiento físico, Physical ageing) y para un polímero semicristalino tanto la T_g como la T_m son parámetros importantes a la hora de predecir el comportamiento de PLA. Así mismo, la temperatura de fusión incrementa con un aumento de la masa molecular hasta sus valores máximos, es decir, que la cristalinidad de las muestras disminuyen con el aumento de la masa molecular [40].

Para Dorgan y colaboradores, el PLA que presenta un mayor contenido de L-lactida tiene valores más altos de T_g que el mismo polímero con la misma cantidad de D-lactida [96]. Por su parte, para el PLA la entalpía de fusión puede encontrarse entre 40 y 203 J·g⁻¹, sin embargo el valor teórico adoptado para un PLA 100% cristalino ha sido estimado en 93,6 J·g⁻¹ [68,87,97].

Por otro lado, el PLA puede obtenerse en su forma amorfa o con una fracción cristalina de hasta un 40% a temperatura ambiente [30] y cristalizar en tres modificaciones estructurales diferentes (α , β , y γ) dependiendo de la composición de los enantiómeros ópticamente activos L- y D,L- [98].



Los cristales α se obtienen durante la fusión y la cristalización en frío, son más estables y tienen una temperatura de fusión de 185 °C en comparación a la estructura β (175 °C) [97]. En la forma α , hay dos cadenas antiparalelas de conformación helicoidal 10_3 en una celda de forma pseudo-ortorrómbica de dimensiones $a = 10,7 \text{ \AA}$, $b = 6,45 \text{ \AA}$ y $c = 27,8 \text{ \AA}$ [39,66,95,96] y se producen cuando la cristalización se da a temperaturas superiores a 120 °C. Por otra parte, muestras de PLLA que cristalizan a temperaturas menores a 100 °C, producen cristales de la forma α' con igual estructura que la forma α , sin embargo, más desordenada y con menor estabilidad térmica. Ambas estructuras coexistirán si la cristalización se da entre 100 y 120 °C [92,100,101].

La segunda fase, la forma β , se genera tras el estiramiento mecánico. Presenta una conformación de cadenas 3_1 helicoidal contenidas en una celda unitaria trigonal de dimensiones $a = b = 10,5 \text{ \AA}$ y $c = 8,8 \text{ \AA}$ [40,98].

La tercera modificación de cristales es la forma γ que se genera a partir de la cristalización epitaxial sobre un sustrato (hexametilbenceno), con dos cadenas antiparalelas 3_1 contenidas en una celda unitaria ortorrómbica de dimensiones $a = 9,95 \text{ \AA}$, $b = 6,25 \text{ \AA}$ y $c = 8,8 \text{ \AA}$ [40,99].

Por otra parte, como mencionamos anteriormente, dependiendo de las cantidades de L, D y meso-lactida presentes en su estructura, el PLA puede ser amorfo o semicristalino. Por lo tanto, con un contenido de L-ácido láctico mayor del 93% el PLA será un material semicristalino y con contenidos entre el 50 y el 93% un material totalmente amorfo, con una temperatura de transición vítrea más baja y una mayor velocidad de degradación [30,40,102]. Por otro lado, Tsuji y otros indicaron que la mezcla del estereocomplejo PLLA/PDLA (estructura cristalina racémica) presenta mayor estabilidad térmica, con una temperatura de fusión (230 °C) significativamente más alta que las formas enantioméricas α y β (180 y 170 °C) incluso a pesar de tener similar o igual conformación helicoidal que la forma β y una mayor resistencia a la hidrólisis en comparación al PLLA y PDLA puros. Además, los estereocomplejos PLLA/PDLA forman homocristales α en una

celda pseudo-ortorrómbica y una estructura mucho más estable térmicamente (η) que funde a altas temperaturas [94,103,104].

Por otra parte, el PLA es un material biodegradable que presenta inestabilidad térmica para el procesado que depende de una serie de factores como el peso molecular, la cristalinidad, pureza, temperatura, pH, presencia de grupos carboxilo o hidroxilo, permeabilidad al agua y aditivos que actúan catalíticamente, como las enzimas, bacterias o cargas inorgánicas [30,97]. La estabilidad térmica depende de la masa molar y el índice de polidispersidad (PDI), en concreto aumenta al aumentar la masa molar y disminuir el PDI [8]. El PLA es un poliéster alifático y sus grupos ésteres se degradan por una serie de reacciones como son: a) la termo-hidrólisis en presencia de agua y catalizada por los monómeros hidrolizados como ácido láctico o lactida como ilustra la siguiente reacción [105]: $-COO- + H_2O \rightarrow -COOH + HO-$, b) la despolimerización tipo cremallera, “*zipper-like*”, del PLA, favorecida por la presencia de residuos de catalizadores utilizados durante la síntesis, la degradación termo-oxidativa con escisión de la cadena polimérica y, c) reacciones de transesterificación intramolecular e intermolecular que dan lugar a la formación de lactida y oligómeros cíclicos de baja masa molar [40,97].

La degradación térmica del PLA es un proceso muy complejo y se da normalmente entre 230 y 260 °C, por lo tanto es considerado seguro para el uso en aplicaciones a temperatura ambiente; sin embargo, tiende a perder sus propiedades estructurales a temperaturas por encima de los 60 °C. Muchos tipos de productos se han encontrado durante la degradación pirolítica del PLLA, especialmente oligómeros cíclicos y sus diastereoisómeros. Estos cambios producidos durante la degradación térmica del PLA influyen directamente en su viscosidad, reología y propiedades mecánicas [32,97,106].

1.2.3.- Aplicaciones en el empaquetado de alimentos

Como se ha mencionado anteriormente, el PLA es un biopolímero que presenta propiedades atractivas en diversas aplicaciones sin embargo, algunas de sus



propiedades como las de barrera, térmicas y mecánicas limitan su uso a la hora de escogerlo con el fin de fabricar envases para contener, proteger y prolongar la vida útil de los alimentos [32]. Estos envases deben garantizar la calidad del material evitando su deterioro por diversos factores externos como el vapor de agua, temperatura, crecimiento microbiano influenciado por la humedad, etc.

Estas propiedades y en especial la fragilidad del PLA pueden ser mejoradas por la adición de plastificantes sin embargo, estos aditivos pueden generar un aumento en la permeabilidad de los gases de la matriz polimérica [102,107]. Por otra parte, se ha demostrado que la adición de partículas por medio de procesos relativamente fáciles pueden mejorar las propiedades mecánicas de los materiales, aumentando por un lado su cristalinidad lo que dificultaría el paso de los gases a través de la matriz polimérica, sin embargo, debe tenerse en cuenta que las partículas agregadas a la matriz polimérica no sean tóxicas, es decir, evitar cualquier contaminación hacia el alimento [108,109].

La degradabilidad es otro factor fundamental que debe considerarse. Por ejemplo, durante la degradación térmica del PLA se puede producir una mezcla de acetaldehído y CO₂, siendo el acetaldehído un compuesto indeseable aunque no tóxico ya que puede alterar las propiedades sensoriales de los alimentos. Por otra parte, se ha demostrado que la degradación de los materiales se puede mejorar a través de la adición de nanopartículas, evitando la proliferación de microorganismos, pirólisis e hidrólisis [106,110–112].

1.2.4.- Líneas de desarrollo y mercado actual del PLA

La industria de envasado de alimentos a nivel global tiene mucho que aportar, no sólo para hacer frente a las pérdidas de alimentos, sino también para garantizar la seguridad alimentaria, así como mejorar el comercio mundial de alimentos, que son la clave para el desarrollo económico de muchas economías en desarrollo. En los últimos años, la evolución de la economía mundial ha sido fuerte, pero también distribuida de forma

desigual, con el aumento de precios del petróleo y de las materias primas y el fuerte crecimiento especialmente de los mercados emergentes [113].

El empaquetado de alimentos es cada vez más importante en la industria alimentaria, donde los avances en su funcionalidad están cada día llamando más la atención del consumidor, con el fin de sustituir los envases que contaminan el medio ambiente, es por esto que existe una mayor conciencia sobre la responsabilidad o sostenibilidad social, es decir la transición hacia una bioeconomía y uso eficiente de los recursos, convirtiéndose en un objetivo primordial también para la industria [28,62,114]. La tendencia a consumir más (un reflejo del aumento de los ingresos) crea una demanda que impulsa a los productores a ofrecer productos de mejor calidad, envases de alto rendimiento con fuertes características de barrera, extendiendo la vida útil de los productos, siendo respetuosos con el medio ambiente, proporcionar la información necesaria de su contenido para promover la eficiencia de la cadena de suministro [115]. Por lo tanto, el desarrollo y producción de materiales se basan en la búsqueda de una solución que proporcione a la sociedad los beneficios reales de los plásticos y polímeros. Por su parte, como los polímeros producidos de fuentes agrícolas son cada día más utilizados, empresas como CargillDow están trabajando en que los procesos agrícolas para la producción de materias primas se vuelvan cada vez más restaurativos para los ecosistemas agrícolas, comunidades agrícolas y economías agrícolas [62].

Por otra parte, las buenas propiedades relativas a un material de empaquetado producidos a partir de materiales biodegradables, como por ejemplo, la permeabilidad, propiedades de tracción, etc., sugieren que una amplia gama de productos alimenticios puedan ser envasados utilizando películas elaboradas a partir de biopolímeros [114]. Se estima que aproximadamente el 90% de los polímeros convencionales pueden ser sustituidos por bioplásticos, representando la línea de productos de más rápido crecimiento en la industria de polímeros biodegradables [116,117]. En la Figura 1.4 podemos observar que la producción mundial de PLA fue de 11,4% para el año 2013 [33].



Hoy en día se está empleando un nuevo enfoque para evaluar y analizar este desarrollo en las redes sociales, por ser éstas capaces de revelar la estructura que sustenta las relaciones entre las partes interesadas, asimismo revela los efectos emergentes que no se pueden detectar mediante otros métodos, por eso, cada día se reconocen más como el uso de las redes sociales juegan un papel importante y clave en el potencial de difusión de las nuevas tecnologías empleadas en las industrias de producción [116].

1.3.- Materiales compuestos

Los materiales compuestos se han empleado desde el principio de la civilización, por ejemplo, en el antiguo Egipto se mezclaba la paja con la arcilla para mejorar su resistencia al agrietamiento, sin embargo, los principales avances en la comprensión y utilización de los materiales compuestos han ocurrido durante los últimos 40 años.

El uso de materiales compuestos ha aumentado constantemente en la industria como una alternativa viable a los materiales tradicionales como por ejemplo en la industria aeroespacial y de defensa, pioneras en este campo, pero sus atractivas propiedades de rendimiento han desencadenado su interés y uso en la producción de materiales deportivos, barcos, componentes de refuerzo, energía, etc. [118] .

“Un material compuesto es un sistema material constituido por una mezcla o combinación de dos o más constituyentes que difieren en forma y composición química y que son esencialmente insolubles entre sí” [119].

Por lo tanto, un material compuesto está constituido por un material que actúa como matriz que es el que da forma e integridad al conjunto del sistema y un material de relleno o fase dispersa que suele actuar como refuerzo y que otorga otras propiedades a la matriz. Sus propiedades dependen no solo de sus constituyentes sino también de la morfología (forma, tamaño y distribución de sus fases) y de las propiedades interfaciales del nuevo material, observándose en general un efecto sinérgico en todas o alguna de ellas [120,121].

En resumen, los materiales compuestos se clasifican en primer término con arreglo a la matriz. Por consiguiente, tenemos materiales compuestos de matriz metálica, de matriz polimérica y de matriz cerámica. Así mismo, se clasifican según la forma del refuerzo. Por tanto hay materiales compuestos particulados que consisten en una matriz continua y una fase de refuerzo discontinua formada por partículas discretas, materiales de fibra reforzadas y laminares o redes interpenetradas formadas por dos fases continuas. En la mayor parte de las aplicaciones, el refuerzo tiene una resistencia mecánica y un módulo mayor que el de la matriz [120]. Finalmente, se podrían clasificar en función del tamaño del relleno, en este sentido cabe destacar las extraordinarias variaciones que pueden generarse en las propiedades finales cuando al menos una de las dimensiones del relleno se encuentra dentro de la escala de los nanómetros (materiales nanocompuestos).

1.3.1.- Materiales nanocompuestos

La nanotecnología se ha convertido en uno de los más importantes y excitantes campos de la vanguardia en física, química, ingeniería y biología y se define como la capacidad controlada para la fabricación de productos formados por dos o más constituyentes donde al menos uno es un material o componente con al menos una de sus dimensiones en la escala nanométrica (1×10^{-9} m). En el caso de los materiales nanocompuestos las partículas constituyentes del relleno posee longitud, anchura o espesor, inferior a 100 nm, adquiriendo de este modo la denominación de nanocargas o nanorefuerzos [122–124].

En la industria alimentaria la nanotecnología ha desarrollado varias aplicaciones como son el uso de nanopartículas en forma de micelas, liposomas, nanoemulsiones. También cabe mencionar el uso de nanosensores que controlan la calidad y seguridad del alimento así como el desarrollo de materiales nanocompuestos con el fin de mejorar las propiedades térmicas, de barrera y resistencia mecánica aumentando la calidad y vida útil de los alimentos con respecto al polímero puro y a los materiales compuestos convencionales [28,125].



En los materiales nanocompuestos se debe prestar especial atención a las interfaces, que hacen referencia a un gradiente de propiedades y de composición entre las dos regiones asociadas a sus constituyentes, pues pueden ser las principales responsables de la mejora de las propiedades con respecto a los materiales integrantes por separado. Esta mejora notable de las propiedades se suele lograr con una fracción en volumen de relleno muy baja (1-5% v/v) comparada con las fracciones en volumen que se necesitarían para un material compuesto convencional (20-40% v/v) [119,124,126]. Las nanopartículas presentan una alta relación superficie-volumen en comparación con sus equivalentes en la escala micro y/o macro, por lo que las interfaces que se generan pueden constituir una fracción en el material nanocompuesto lo suficientemente grande como para considerarla un nuevo constituyente del material y que esto sea la causa por la cual la mejora de propiedades sea mayor en comparación con los materiales compuestos convencionales. Las propiedades que pueden sufrir mejoras son la estabilidad térmica y la resistencia mecánica frente a la humedad [127], las propiedades barrera frente a gases y líquidos, la conductividad eléctrica sin observarse reducciones significativas en la dureza [128] y la transparencia de estos materiales [129,130].

1.3.1.1.- Tipos de nanocompuestos

Podemos distinguir tres tipos de nanocompuestos dependiendo de su aspecto, geometría y de la dispersión de las partículas a escala nanométrica en: i) nanométricos en tres dimensiones o isodimensionales, como pueden ser las partículas esféricas de diámetro nanoscópico (por ejemplo de sílice), ii) dos dimensiones o tubulares, como los nanotubos y las nanofibras (*whiskers*) y, iii) una dimensión en el rango nanométrico, como las láminas procedentes de ciertos minerales laminados (arcillas como saponita, caolín, montmorillonita) [32,131]. El primero y último casos son los que se tienen en cuenta en este trabajo. En el último caso, se clasifican en tres tipos desde el punto de vista morfológico dependiendo del grado de separación y/o dispersión de las láminas de relleno en la matriz polimérica (Figura 1.12) [124,128,132,133]:

- a) Los micro-compuestos o materiales convencionales, donde las nanopartículas de arcilla actúan como micro-partículas porque no permiten al polímero intercalarse entre sus láminas, es decir, el polímero no es capaz de penetrar en las láminas de silicatos y éstas forman micro-agregados (Figura 1.12 (a)),
- b) Nanocompuestos intercalados donde una o más cadenas están intercaladas entre los planos cristalinos de los silicatos resultando en una morfología multi-lámina (estructura ordenada) con una distancia fija entre las láminas (Figura 1.12 (b)) y,
- c) Los nanocompuestos exfoliados que se obtienen cuando existe una dispersión al azar y uniforme de las láminas de silicatos en la matriz polimérica debido al aumento de la distancia interlaminar (Figura 1.12 (c)).

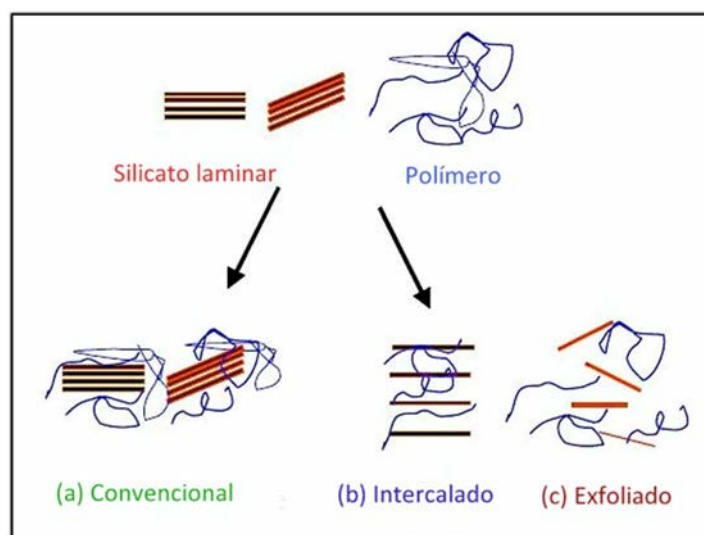


Figura 1.12.- Tipos de materiales compuestos basados en la interacción polímeros-silicatos laminares [133].

De las tres estructuras, en general, la exfoliada es la de mayor interés práctico. La completa dispersión de las láminas de silicato en la matriz polimérica optimiza el número de elementos de refuerzos y su elevada área superficial maximiza las interacciones refuerzo-matriz lo que conduce a mejorar las propiedades barrera, mecánicas, estabilidad térmica y química respecto al polímero sin refuerzo. No obstante, la mayoría de los nanocompuestos que aparecen en la bibliografía científica presentan una estructura intercalada y exfoliada [134,135].

1.3.2.- Materiales bionanocompuestos y su empleo en el empaquetado de alimentos

Existe un creciente interés en el desarrollo de bionanocompuestos y del uso de procesos tecnológicos innovadores que puedan reducir la dependencia de los plásticos convencionales derivados del petróleo al empleo de materiales sostenibles de alto rendimiento debido principalmente a algunas limitadas propiedades de los polímeros de origen natural (biopolímeros) [136,137]. Los bionanocompuestos son obtenidos de materiales 100% biodegradables, es decir, tanto el polímero como el relleno se obtienen de recursos renovables [20]. Por su parte, los bionanocompuestos son materiales híbridos nanoestructurados que mejoran las propiedades termomecánicas y de alta barrera contra la difusión de oxígeno, dióxido de carbono, compuestos aromáticos y vapor de agua, que son de especial interés en el empaquetado de alimentos porque protegen al alimento y aumenta su vida útil [125,136,138].

Los biopolímeros más estudiados y adecuados para aplicaciones de empaquetado son los polisacáridos (almidón y derivados de celulosa), el ácido poliláctico (PLA), policaprolactona (PCL), polisuccinato de butileno (PBS) y el polihidroxibutirato (PHB) [136,137], y su biodegradabilidad puede ser mejorada con la introducción de partículas inorgánicas como las arcillas.

Entre las nanocargas más prometedoras utilizadas como rellenos se incluyen los nanotubos de carbono, plata, dióxido de titanio, sílice, caolín, montmorillonita, carbonato de nanocalcio, hidroxiapatita y cristales de nanocelulosa [136,139].

1.3.3.- Dispersión de nanopartículas en plásticos

Los bionanocompuestos generalmente se preparan por tres métodos: i) polimerización "*in situ*", ii) inserción directa del polímero desde una disolución mediante evaporación del disolvente, "*casting*" e, iii) inserción directa del polímero desde el fundido. Recientemente se han utilizado otros métodos como "*electrospinning*" y el procesado en condiciones supercríticas. En este caso por ejemplo, en los bionanocompuestos a base

de arcillas el uso de dióxido de carbono supercrítico ha sido muy útil para ampliar las distancias entre las láminas, ayudando de igual forma en la dispersión de las partículas en la matriz polimérica [139].

En la polimerización “*in-situ*” se dispersan las nanopartículas en un monómero y después se polimeriza la mezcla por difusión de un iniciador orgánico o por catálisis a través de cationes intercambiables. Por “*Casting*”, las partículas se dispersan en un disolvente adecuado formando una estructura tipo gel. Separadamente el polímero se disuelve en el mismo disolvente y se añade a la dispersión anterior de tal manera que al mezclarse, las cadenas poliméricas se intercalan, desplazando al disolvente que se encuentra entre las láminas. El disolvente se elimina por evaporación. En el procesado en estado fundido consiste en dispersar las partículas en el polímero calentando la mezcla hasta el punto de fusión del polímero. Durante este proceso, las moléculas se difunden desde la masa fundida del polímero entre las láminas de silicato. La cizalla favorece la separación y o fractura de las láminas de silicato, lo que favorece el proceso de exfoliación. El objetivo de estos métodos es obtener una dispersión uniforme de las nanopartículas. La selección de cualquiera de estos métodos depende del tipo de biopolímero y nanopartícula, siendo el procesado en estado fundido el más utilizado en la industria en los procesos de moldeo por extrusión o inyección y es un método respetuoso con el medio ambiente al no utilizar disolventes orgánicos ni reactivos [139,140].

1.4.- Silicatos laminares. Caolín

El PLA sin la presencia de aditivos presenta limitadas propiedades: por tal motivo, la industria del empaquetado se ha centrado principalmente en el uso de refuerzos inorgánicos laminados como los silicatos debido a su alta disponibilidad, relativo bajo coste, inocuidad hacia el medio ambiente y porque permiten mejorar significativamente las propiedades del PLA [32,140].

La incorporación de silicatos laminares en polímeros se hizo constar por primera vez hace más de cincuenta años, sin embargo, su explotación tecnológica se dio a principios



de 1990. De hecho, uno de los primeros estudios sistemáticos de la interacción entre una arcilla y un polímero data de 1949 al describir la absorción del ADN por la montmorillonita [141,142].

Los silicatos laminares o también conocidos como filosilicatos son minerales que engloban las arcillas naturales o sintéticas como la fluorohectorita y magadiita, y pueden clasificarse según el número de capas que conforman cada lámina en dos tipos: los tipo 1:1 (por ejemplo, caolinita) donde una capa tetraédrica de sílice se fusiona a una capa octaédrica de aluminio compartiendo los átomos de oxígeno, sin embargo, los silicatos laminares comúnmente más utilizados como relleno de matrices poliméricas son los que pertenecen a la familia de las esmectitas (por ejemplo, montmorillonita (MMT)) de estructura cristalina tipo 2:1 constituida por tres láminas paralelas, una capa central octaédrica de hidróxido de aluminio y dos capas tetraédricas de sílice. A la unidad formada por la unión de una capa octaédrica más dos tetraédricas se les denomina laminillas [128,141,143].

En la Figura 1.13 (a) se ilustra la estructura tipo 2:1 y en la Figura 1.13 (b) la estructura de tipo 1:1 para los silicatos laminares.

Si todos los espacios octaédricos están ocupados, se trata de una lámina trioctaédrica y si solo están ocupados dos tercios de las posiciones octaédricas y el restante está vacante, se denomina dioctaédrica como la caolinita. Se puede observar que entre las láminas de los silicatos existe un espacio llamado distancia interlaminar o galería y la suma del grosor de una lámina más el espacio interlaminar representa el espaciado basal. Esta distancia interlaminar está directamente relacionada con las propiedades finales de un nanocompuesto. Debido a las sustituciones isomórficas de unos iones por otros, por ejemplo Al^{3+} o Fe^{3+} en la capa tetraédrica o Fe^{2+} , Fe^{3+} o Mg^{2+} en la capa octaédrica, aparece un desequilibrio de cargas negativas en la superficie que se compensan por cationes intercambiables de tipo alcalino (Na^{1+} , Ca^{2+} y K^{1+}) situados en el espacio interlaminar o galería [124,132,133]. Esta carga superficial negativa se le

conoce como capacidad de intercambio catiónico (CEC), expresada como valor promedio del cristal en miliequivalentes por 100 g (meq 100 g⁻¹) [128,144].

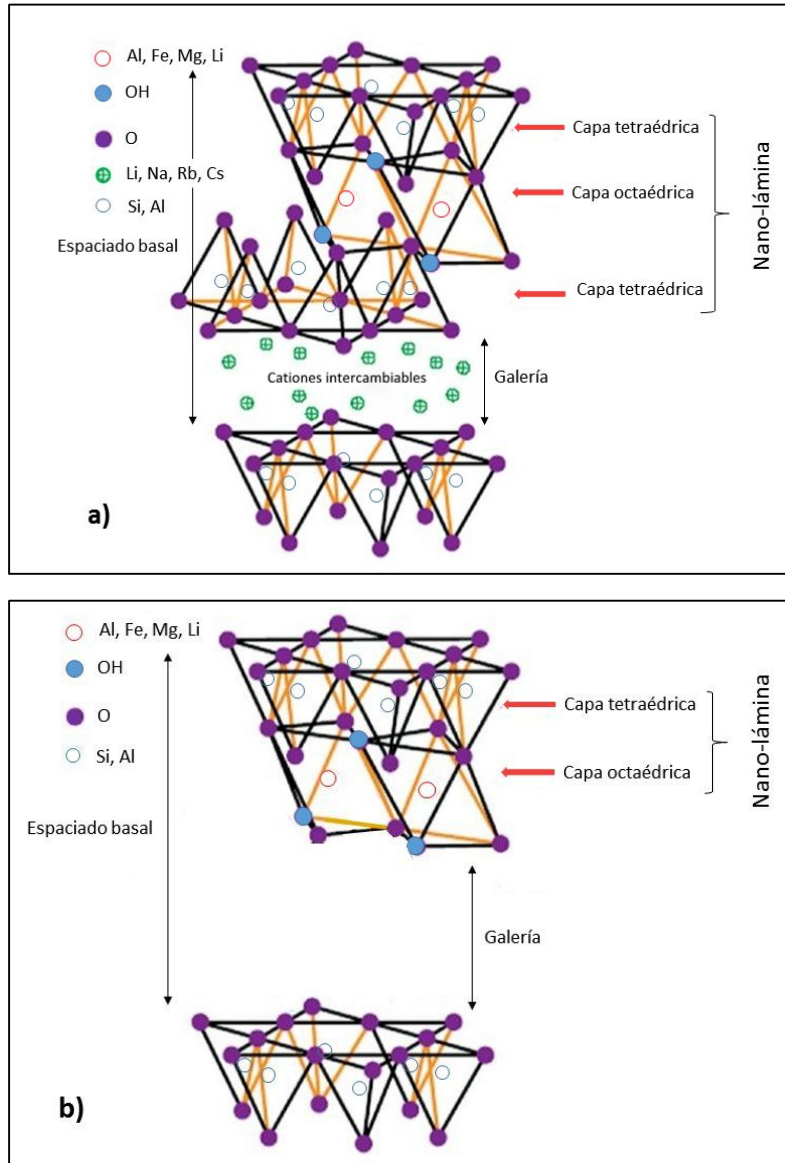


Figura 1.13.- Estructura idealizada de silicatos laminares tipo a) 2:1 y, b) 1:1 [20,145].

La caolinita por ejemplo, tiene una composición química $\text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4$, espacio basal de 0,72 nm y no posee ni aniones ni cationes intercambiables en su espacio interlaminar, por lo que su capacidad de intercambio catiónico es muy pequeña, de 3-5 meq 100g⁻¹. En el caso de la MMT el valor promedio de CEC es mucho mayor que la caolinita (110 meq 100g⁻¹) [146].



Por su parte, la caolinita es el nombre que recibe un mineral del grupo de la arcilla, como silicato aluminico hidratado de color blanco. El término caolín es aplicado a productos principalmente compuestos por caolinita (en algunos casos haloisita), el cual se produce de yacimientos minerales que contengan una cantidad significativa de caolinita, es decir, la composición bruta de un caolín consiste en caolinita/haloisita, cuarzo, feldespatos y micas. Así mismo, el caolín obtenido de la explotación minera posee un contenido variable en caolinita y/o haloisita < 20%. Como la caolinita tiene un tamaño de partícula muy pequeño, el lavado de las fracciones groseras durante la extracción mineralógica conduce a un material con alto contenido en caolinita y pequeñas cantidades de cuarzo, mica, feldespatos y óxidos de hierro [147].

Como mencionamos anteriormente, en la estructura de la caolinita no existen cationes ni aniones intercambiables entre sus láminas, lo que dificulta la obtención de materiales nanocompuestos de matriz polimérica a partir de sus láminas y por otro lado, también la presencia de interacciones de van der Waals entre los grupos Al-OH y Si-O que unen entre si las láminas adyacentes y que le otorgan a esta arcilla una gran energía cohesiva interlaminar, dificultan la intercalación directa de compuestos moleculares orgánicos que permitan la expansión de los espacios interlaminares y su compatibilización posterior con matrices poliméricas hidrofóbicas [130,148].

En el caso del PLA, que es un poliéster de naturaleza hidrófoba y la montmorillonita que es de carácter hidrófila su compatibilidad es baja sin embargo, estas cargas pueden ser modificadas proporcionando mayor afinidad a la hora de establecer enlaces o interacciones favorables con las cadenas del polímero, denominadas como cargas organomodificadas [149].

Por lo tanto, a la hora de preparar un nanocompuesto se busca obtener una dispersión homogénea de las partículas y mejorar las propiedades finales del material lo cual se puede lograr cuando la compatibilidad entre el polímero y la carga son elevadas.

Los usos del caolín son muy numerosos y variados debido a una serie de propiedades inherentes a su naturaleza, entre las que cabe destacar fundamentalmente su blancura, su resistencia ante los agentes químicos, ausencia de toxicidad, fino tamaño de sus partículas, su superficie específica, gran poder para recubrir, elevada refractariedad, alto poder absorbente y adherente, etc. Todas estas propiedades, unidas a su abundancia y variedad hacen del caolín una de las materias primas, no metálicas, de mayor consumo e importancia industrial [147].

1.5.- Preparación de películas (procesado de materiales) para empaquetado de alimentos

La mayoría del desarrollo en el campo de la tecnología de los alimentos se ha orientado hacia la mejora de una producción y elaboración de alimentos a menor coste y con mayores niveles de calidad. Entre las muchas nuevas tecnologías, es notable el desarrollo de la maquinaria de procesado y empaquetado, dando lugar a mayores niveles de regulación en higiene, salud y seguridad alimentaria. Los equipos de procesado y empaquetado tienen hoy en día nuevas funciones y ofrecen mayor seguridad, calidad y productividad, que implica a la vez mejores sistemas de diseño de los envases, por lo tanto, significa que el desarrollo de estas nuevas funciones en el empaquetado puede ir a la par del desarrollo de nuevos procesos, materiales y equipos [150].

Como se ha mencionado anteriormente, la necesidad de incorporar compuestos en matrices poliméricas como antimicrobianos, antioxidantes, aromas, nanopartículas, colorantes, nutraceuticos, etc., es una de las principales ventajas de los polímeros, al permitir la mejora de sus propiedades, principalmente su propiedades de barrera. En esta línea, destaca el uso de silicatos laminares por su alta compatibilidad con los polímeros, bajo coste y alta eficacia en la mejora de las propiedades del PLA [151,152]. Sin embargo, más allá de mejorar las propiedades barrera, con el propósito de mejorar sistemas de empaquetado de alimentos y gracias a los avances tecnológicos han sido posibles nuevas investigaciones para obtener nuevos materiales. Entre ellos, cabe



destacar los nuevos sistemas de empaquetado funcionales que se han comercializado con mucho éxito y que incluyen los envases activos, envases con atmósfera modificada (MAP) y las películas y recubrimientos comestibles. Un envase activo tiene como propósito mantener o alargar la calidad del producto envasado mediante la retención de sustancias indeseables del producto o su entorno y la de liberar sustancias beneficiosas al producto, es decir, un sistema de empaquetado activo extiende la vida útil de los alimentos mediante la mejora de la calidad por tiempos más largos, aumenta la seguridad y protección contra microorganismos y mejora la eficiencia en la elaboración, distribución, comercialización y consumo de los alimentos [150,153]. Por ejemplo, la adición de partículas de plata a películas de PLA le confieren un carácter antimicrobiano y la incorporación de resveratrol y α -tocoferol mejoran las propiedades térmicas de los materiales finales [44,154].

Por otro lado, la MAP se utiliza para preservar la frescura de productos frescos, carne y pescados controlando su metabolismo bioquímico tales como la respiración y fermentación mediante el empaquetado al vacío, por inyección de gases (CO_2 , SO_2 , ClO_2 , Ar) o inmersión en nitrógeno. Así mismo, las películas y recubrimientos comestibles son materiales producidos principalmente de biopolímeros comestibles y de aditivos de calidad alimentaria. Estos plastificantes o aditivos tienen como fin modificar y mejorar las propiedades físicas de las películas o la de crear funcionalidades adicionales. Las películas y recubrimientos comestibles mejoran también la calidad de los productos alimenticios protegiéndolos de los procesos de deterioro natural, aumentando la resistencia física de los productos, reducen la agrupación de partículas y mejoran las características visuales y táctiles de las superficies de los alimentos [150,155–157].

Por otra parte, el proceso de termoconformado es el que permite la fabricación de materiales en forma de películas o láminas a partir de materiales termoplásticos por la acción combinada de presión y calor y con espesores nominales comprendidos entre 0,1-12 mm [158]. Se conoce que la mayoría de estos productos termoconformados son utilizados en empaquetados de alimentos, cosméticos, herramientas, envases de fármacos y que son relativamente fáciles de producir, transportar y bastante

económicos. En general, el proceso de termoconformado consiste en calentar el material para reblandecerlo y así deformarlo [159–161].

Por otro lado, aunque el PLA puede ser procesado con mínimas modificaciones en equipos convencionales, se debe tomar en consideración sus propiedades con el fin de optimizar su transformación en productos finales [150]. Por ejemplo, para un polímero semicristalino su temperatura de procesamiento o conformado se encuentra próxima a la temperatura de fusión (T_m) sin embargo, para un polímero amorfo su temperatura mínima de trabajo es definida por la temperatura de transición vítrea (T_g), es decir, permite un mayor rango de temperatura de procesamiento que los materiales cristalinos. Por otra parte, la forma deseada se consigue mediante la utilización de un molde o con la ayuda de otros mecanismos como aire a presión, vacío, asistencia mecánica o por la combinación de dos o más de estas técnicas [160]. Durante el conformado, el polímero puede adquirir diferentes grados de orientación o tipos de deformación como el estiramiento bi y uniaxial y el cizallamiento puro. Para el moldeo asistido mecánicamente o al vacío, la película está sujeta a una deformación uniaxial y restringida sin embargo para el moldeo asistido por aire a presión la película se estira biaxialmente y experimenta una deformación no restringida [159]. Por lo tanto, para la elaboración de un material termoconformado a partir de un material reblandecido de bajo coste y con poca resistencia mecánica no se requiere la utilización de grandes esfuerzos ni presiones, confirmando que el proceso sea más competitivo frente a otras técnicas.

1.6.- Materiales con efecto bactericida

Los envases activos se han convertido en una de las principales áreas de investigación en el empaquetado de alimentos, principalmente los de carácter antimicrobiano debido a que bacterias como la *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli* y *Yersinia enterocolitica* contaminan los alimentos y son responsables de enfermedades y muertes transmitidas mediante ellos. Por tal motivo, se deben tomar medidas necesarias para garantizar la seguridad de los productos



alimenticios evitando su contaminación y pérdida de las propiedades organolépticas alargando la vida útil de los productos. Por otra parte, se sabe que diversos métodos de preservación de alimentos (como la irradiación, secado, congelación, tratamientos térmicos, vacío, MAP, etc.) pueden ser valiosos en su conservación sin embargo, existe una creciente preocupación por el crecimiento y supervivencia de ciertos microorganismos como los microaerófilos (por ejemplo: *Campylobacter jejuni* y *Lactobacillus*) los cuales requieren niveles de oxígeno muy inferiores a los que se encuentran en la atmósfera de la tierra para sobrevivir (entre 2 y 10%) y los patógenos psicótrofos como la *Listeria monocytogenes* y *Yersenia enterolítica* que pueden ser peligrosos y crecer a temperatura ambiente y a temperatura de refrigeración [162]. Por todas estas razones, la industria ha incrementado el uso de envases conservantes con características antimicrobianas con el fin de reducir el crecimiento, propagación y descomposición de los alimentos por microorganismos patógenos. Las funciones antimicrobianas de los materiales de empaquetado pueden lograrse mediante la creación de ambientes desfavorables para los microorganismos mediante la eliminación de un entorno esencial de crecimiento y de un contacto directo de agentes antimicrobianos con los microorganismos. Las sustancias antimicrobianas pueden incorporarse a de los materiales de empaquetado de alimentos en tres categorías básicas: i) la incorporación de sustancias antimicrobianas volátiles en una bolsa y que son liberadas dentro del envase durante el almacenamiento, ii) la incorporación directa de la sustancia antimicrobiana en la película y, iii) el recubrimiento de la película/envase donde la matriz polimérica actúa como vehículo para la sustancia antimicrobiana en donde estas sustancias se pueden liberar sobre la superficie del alimento [153,154,162–164].

Por otro lado, otros agentes antimicrobianos usados en materiales de empaquetado, son algunos agentes gaseosos como el CO₂ utilizado en un sistema de atmósfera modificada, dióxido de azufre y etanol [153,164]. Los agentes antimicrobianos generalmente se clasifican en tres grupos: i) agentes químicos (plata, dióxido de carbono, dióxido de titanio, etc.), ii) agentes naturales (ácido láctico, lisozimas, etc.) y, iii) probióticos (bacteria de ácido láctico) [164,165].

Por otra parte, la incorporación de un agente antimicrobiano en un envase podría alterar las propiedades mecánicas y de barrera de los materiales. Algunos pueden actuar como plastificantes, mejorar las propiedades de tracción o por otro lado, tener efectos perjudiciales sobre la resistencia de las películas, cristalinidad y propiedades de barrera [153].

En general, el uso de nanopartículas debido a su tamaño y mayor área de contacto que los compuestos antimicrobianos convencionales han demostrado un gran potencial en mejorar las propiedades de los materiales de empaquetado [153]. Por ejemplo, el dióxido de titanio es considerado por la Administración de Alimentos y Medicamentos (conocida por nombre en inglés Food and Drug Administration o FDA) de los Estados Unidos, un compuesto inorgánico no tóxico utilizado como aditivo de color y de contacto alimenticio y que exhibe buenas propiedades antimicrobianas similares a la plata [164,166,167].

1.6.1.- Dióxido de titanio, TiO_2

En las últimas décadas, la síntesis de nanocompuestos ha sido muy estudiada debido a la buena combinación existente entre las propiedades y las aplicaciones finales del producto, donde un factor importante es el desarrollar interacciones específicas entre las nanopartículas y la matriz del polímero [168]. Por lo tanto, la incorporación de nanopartículas es una herramienta eficaz en la modificación de las propiedades de un polímero y en el control de los procesos de degradación en diferentes medios [169].

El titanio (Ti) fue descubierto en 1791 por William Gregor y aislado por primera vez en 1938 por el químico Mateo Hunter. Es el noveno elemento más abundante en la corteza terrestre con una concentración media de 4000 mg/kg y debido a su gran afinidad por el oxígeno y otros elementos no existen en forma de metal en la naturaleza. El Ti, TiO_2 y TiCl_4 son los compuestos más utilizados en la industria. El TiO_2 , también conocido como dióxido de titanio (IV) es un tipo de óxido de metal, de color blanco, inodoro, no combustible, con un peso molecular de 79,9 mg.mol^{-1} , con una temperatura de

ebullición de 2972 °C y temperatura de fusión de 1843 °C y que existe como una sustancia inorgánica sólida. Es un material poco soluble y se utiliza ampliamente como pigmento blanco [166,170].

Las nanopartículas de TiO_2 generalmente son conocidas como un cerámico “*bioinerte*” y que actúan como material bioactivo. Presentan interesantes propiedades de actividad bacteriostática y fotocatalítica, elevada estabilidad, no inflamable, resistencia a la corrosión, bajo coste y no son consideradas partículas peligrosas, es decir, partículas de baja toxicidad [171–173]. Debido a esta última propiedad han sido utilizadas como “*control negativo*” en muchos estudios toxicológicos “*in vitro*” y “*in vivo*”. Su composición química se compone de varios tipos de rocas y arenas minerales que incluyen otros elementos como el hierro, cromo, vanadio, aluminio, tántalo, hafnio y circonio. Sus propiedades físico-químicas se pueden ver afectadas por su forma, tamaño, característica de la superficie y su estructura interna [166,170,174].

El TiO_2 debido a su brillo y alto índice de refracción es el compuesto más utilizado. Aproximadamente cinco millones de toneladas de este pigmento se consumían anualmente en todo el mundo [166,170,175]. Además, el TiO_2 representa cerca del 70% del volumen total de producción de pigmentos [176], y está entre las nanopartículas más utilizadas en productos de consumo. El TiO_2 se puede utilizar en pinturas, revestimientos, plásticos, papeles, tintas, medicamentos, productos farmacéuticos, productos alimenticios, cosméticos y pasta de dientes [174,175,177,178].

El dióxido de titanio es un aditivo alimentario comúnmente utilizado para el blanqueo y abrillantado de productos alimenticios, especialmente en dulces, salsas blancas, aderezos y ciertos alimentos en polvos. Los alimentos con mayor contenido de TiO_2 son dulces o caramelos y con el fin de lograr un mejor sabor y calidad de los productos, muchos fabricantes se están inclinando a utilizar TiO_2 , lo que conduce a un incremento exponencial en el porcentaje de TiO_2 de grado alimentario utilizado [167,179,180].

Por otra parte, el TiO_2 cristaliza en tres estructuras: rutilo, anatasa y brookita. Existe la estructura cotunnita sintetizada a altas presiones siendo uno de los materiales

policristalinos más duros conocidos, sin embargo, solo las fases rutilo y anatasa juegan un papel importante en las aplicaciones de TiO_2 , donde la fase rutilo es inerte y la fase anatasa es la químicamente más reactiva [166,175,178,181]. Estas fases son las mayormente fabricadas y comercializadas en forma de partículas finas y pueden contener hasta un 95% de TiO_2 [170,182,183].

En la Figura 1.14 se ilustran las estructuras de la fase rutilo y anatasa. La estructura rutilo presenta una unidad tetragonal con dimensiones $a = b = 4,584 \text{ \AA}$ y $c = 2,953 \text{ \AA}$ y, la estructura anatasa tiene una unidad tetragonal $a = b = 3,782 \text{ \AA}$ y $c = 9,502 \text{ \AA}$. Para ambas estructuras la unidad básica de configuración es un octaedro que consiste en un átomo de titanio rodeado de seis átomos de oxígeno. En cada estructura los dos enlaces entre el titanio y los átomos de oxígeno en los vértices del octaedro son un poco más largos.

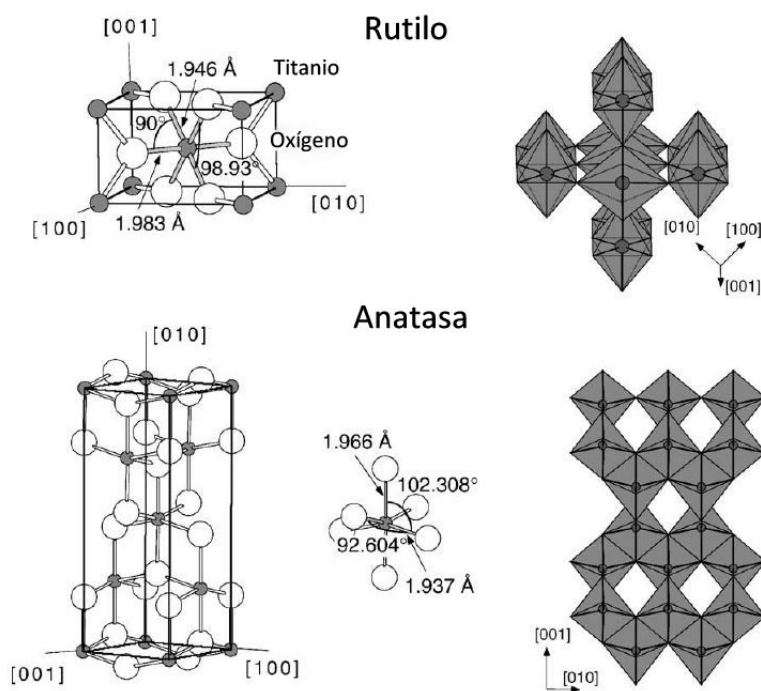


Figura 1.14.- Estructura de la fase rutilo y anatasa del TiO_2 [167,172].

Actualmente, entre los mayores productores de TiO_2 se encuentran África del Sur, Canadá, Australia, China, Brasil, Madagascar e India y su demanda mundial ha aumentado considerablemente en los últimos años debido a sus interesantes



propiedades de mejora al mezclarlo con otros polímeros. No obstante, la mayoría de los nanocompuestos estudiados por otros autores hasta la fecha se han producido a escala de laboratorio, por lo que el uso de estos nuevos materiales en aplicaciones finales aún requiere mayor desarrollo. Por estas razones, es necesario innovar producciones de nanocompuestos de PLA a escala de planta piloto como base para su ampliación a nivel industrial [170].

Con este propósito, en el Departamento de Ciencia e Ingeniería de Materiales e Ingeniería Química de la Universidad Carlos III de Madrid, se ha desarrollado el proyecto de investigación titulado: “Diseño, caracterización y comportamiento en servicio de materiales basados en ácido poliláctico (PLA) con potencial utilidad en el empaquetado de alimentos”, financiado por el Ministerio de Educación y Competitividad y la Secretaría Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación (SENACYT) de la República de Panamá. Este proyecto, además, contó con el apoyo del Departamento de Nutrición, Bromatología y Ciencia de los Alimentos de la Universidad Complutense de Madrid, El Departamento de Química y Edafología de la Universidad de Navarra y El Departamento de Bioingeniería e Ingeniería Aeroespacial de la Universidad Carlos III de Madrid.

En este trabajo, como matriz polimérica, se utilizó el PLA comercializado por la firma Natureworks® y como refuerzos, se utilizó un silicato laminar, el caolín, comercializado por la firma Sigma Aldrich y el dióxido de titanio, elegidos por su alto grado de compatibilidad con el PLA. Los materiales preparados se han diseñado con miras a su futura aplicación en la producción de empaquetado de alimentos.

REFERENCIAS

- [1] Zink DL. The impact of consumer demands and trends on food processing. *Emerg Infect Dis* 1997;3:467–9. doi:10.3201/eid0304.970408.
- [2] Van der Valk W, Wynstra F. Supplier involvement in new product development in the food industry. *Ind Mark Manag* 2005;34:681–94. doi:10.1016/j.indmarman.2005.05.009.
- [3] Kaufmann SFM, Palzer S. Food structure engineering for nutrition, health and wellness. *Procedia Food Sci* 2011;1:1479–86. doi:10.1016/j.profoo.2011.09.219.
- [4] Arrieta MP, Peltzer M a., López J, Garrigós MDC, Valente AJM, Jiménez A. Functional properties of sodium and calcium caseinate antimicrobial active films containing carvacrol. *J Food Eng* 2014;121:94–101. doi:10.1016/j.jfoodeng.2013.08.015.
- [5] Kadam A a, Karbowiak T, Voilley A, Debeaufort F. Techniques to measure sorption and migration between small molecules and packaging. A critical review. *J Sci Food Agric* 2014;95:1395–407. doi:10.1002/jsfa.6872.
- [6] Plastics Europe. An analysis of European plastics production , demand and waste data. *Plast - Facts* 2014/2015 n.d.:1–32.
http://www.plasticseurope.org/documents/document/20150227150049-final_plastics_the_facts_2014_2015_260215.pdf (accessed May 28, 2015).
- [7] Europea C. CE N°282/2008 sobre los materiales y objetos de plástico reciclado destinados a entrar en contacto con alimentos. *D Of La Unión Eur* 2008;9–18.
<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2008:086:0009:0018:ES:PDF> (accessed July 27, 2015).
- [8] Carrasco F, Pagès P, Gámez-Pérez J, Santana OO, MasPOCH ML. Processing of poly(lactic acid): Characterization of chemical structure, thermal stability and mechanical properties. *Polym Degrad Stab* 2010;95:116–25. doi:10.1016/j.polymdegradstab.2009.11.045.
- [9] Avella M, Bonadies E, Martuscelli E, Rimedio R. European current standardization for plastic packaging recoverable through composting and biodegradation. *Polym Test* 2001;20:517–21. doi:10.1016/S0142-9418(00)00068-4.

- [10] Arrieta MP, Peltzer MA, Garrigós Selva MC, Jiménez Migallón A. Envases alimentarios sostenibles. Biopelículas activas obtenidas a partir de proteínas lácteas. *Segur Y Medio Ambient* 2011;121:46–56.
- [11] Areizaga J, Cortazar MM, Elorza JM, Iruin JJ. *Polímeros*. Madrid: Síntesis; 2002.
- [12] Latini G. Monitoring phthalate exposure in humans. *Clin Chim Acta* 2005;361:20–9. doi:10.1016/j.cccn.2005.05.003.
- [13] Latini G, Del Vecchio A, Massaro M, Verrotti A, De Felice C. Phthalate exposure and male infertility. *Toxicology* 2006;226:90–8. doi:10.1016/j.tox.2006.07.011.
- [14] Koller M, Salerno A, Dias M, Reiterer A, Braunegg G. Modern biotechnological polymer synthesis: A review. *Food Technol Biotechnol* 2010;48:255–69.
- [15] Lin X, Zhan M, Yan M, Dai A, Wu H, Li X, et al. Suppression of dioxins in waste incinerator emissions by recirculating SO₂. *Chemosphere* 2015;133:75–81. doi:10.1016/j.chemosphere.2015.03.080.
- [16] Scott G. Green polymers. *Polym Degrad Stab* 2000;68:1–7.
- [17] Arrieta MP. *Films de PLA y PLA-PHB plastificados para su aplicación en envases de alimentos. Caracterización y análisis de los procesos de degradación*. Universidad Politécnica de Valencia, 2014.
- [18] CEN. Final Report of CEN/BT/WG 209 “Bio-based products.” *Eur Comm Standadization* 2010:1–18.
ftp://ftp.cen.eu/CEN/Sectors/List/bio_basedproducts/BTWG209finalreport.pdf
(accessed June 8, 2015).
- [19] López-Castejón ML, Bengoechea C, García-Morales M, Martínez I. Effect of plasticizer and storage conditions on thermomechanical properties of albumen/tragacanth based bioplastics. *Food Bioprod Process* 2014;4–11. doi:10.1016/j.fbp.2014.11.002.
- [20] Reddy MM, Vivekanandhan S, Misra M, Bhatia SK, Mohanty AK. Biobased plastics and bionanocomposites: Current status and future opportunities. *Prog Polym Sci* 2013;38:1653–89. doi:10.1016/j.progpolymsci.2013.05.006.
- [21] Chiellini E, Solaro R. Biodegradable polymers and plastics. In: Academic K, editor., *New York: Plenum*; 2003, p. 395.
- [22] Avérous L. *Biodegradable Multiphase Systems Based on Plasticized Starch: A*

- Review. *J Macromol Sci Part C Polym Rev* 2004;44:231–74. doi:10.1081/MC-200029326.
- [23] Armentano I, Bitinis N, Fortunati E, Mattioli S, Rescignano N, Verdejo R, et al. Multifunctional nanostructured PLA materials for packaging and tissue engineering. *Prog Polym Sci* 2013;38:1720–47. doi:10.1016/j.progpolymsci.2013.05.010.
- [24] European Commision. Green paper on a European stargety on plastic waste in the environment 2013;123:1–20. http://www.ab.gov.tr/files/ardb/evt/greenpaper_march_2013.pdf (accessed July 27, 2015).
- [25] Mofokeng JP, Luyt a. S. Morphology and thermal degradation studies of melt-mixed poly(lactic acid) (PLA)/poly(ϵ -caprolactone) (PCL) biodegradable polymer blend nanocomposites with TiO₂ as filler. *Polym Test* 2015;45:93–100. doi:10.1016/j.polymertesting.2015.05.007.
- [26] Tharanathan RN. Biodegradable films and composite coatings: Past, present and future. *Trends Food Sci Technol* 2003;14:71–8. doi:10.1016/S0924-2244(02)00280-7.
- [27] Mensitieri G, Di Maio E, Buonocore GG, Nedi I, Oliviero M, Sansone L, et al. Processing and shelf life issues of selected food packaging materials and structures from renewable resources. *Trends Food Sci Technol* 2011;22:72–80. doi:10.1016/j.tifs.2010.10.001.
- [28] Byun Y, Kim YT. Utilization of Bioplastics for Food Packaging Industry. *Innov. Food Packag.*, Elsevier; 2014, p. 369–90. doi:10.1016/B978-0-12-394601-0.00015-1.
- [29] Bordes P, Pollet E, Avérous L. Nano-biocomposites: Biodegradable polyester/nanoclay systems. *Prog Polym Sci* 2009;34:125–55. doi:10.1016/j.progpolymsci.2008.10.002.
- [30] Avérous L. Polylactic acid: synthesis, properties and applications. *Monomers, Polym. Compos. from Renew. Resour.*, Elsevier; 2008, p. 433–50. doi:10.1016/B978-0-08-045316-3.00021-1.
- [31] Drumright RE, Gruber PR, Henton DE. Polylactic acid technology. *Adv Mater* 2000;12:1841–6. doi:10.1002/1521-4095(200012)12:23<1841::AID-

- ADMA1841>3.0.CO;2-E.
- [32] Jamshidian M, Tehrany EA, Imran M, Jacquot M, Desobry S. Poly-lactic acid: production, applications, nanocomposites, and release studies. *Compr Rev Food Sci Food Saf* 2010;9:552–71. doi:10.1111/j.1541-4337.2010.00126.x.
 - [33] Bioplastics facts and figures. *Eur Bioplastics* 2013:1–6. http://en.european-bioplastics.org/wp-content/uploads/2013/publications/EuBP_FactsFigures_bioplastics_2013.pdf (accessed June 10, 2015).
 - [34] García AV. Estudio de la estabilidad oxidativa de diferentes alimentos lipídicos envasados y su aplicación al desarrollo de envases activos con capacidad antioxidante. Universidad de Alicante, 2014.
 - [35] Tsuji H, Ishizaka T. Blends of aliphatic polyesters. VI. Lipase-catalyzed hydrolysis and visualized phase structure of biodegradable blends from poly(ϵ -caprolactone) and poly(L-lactide). *Int J Biol Macromol* 2001;29:83–9. doi:10.1016/S0141-8130(01)00158-1.
 - [36] Matta AK, Rao RU, S. Suman KN, Rambabu V. Preparation and characterization of biodegradable PLA/PCL polymeric blends. *Procedia Mater Sci* 2014;6:1266–70. doi:10.1016/j.mspro.2014.07.201.
 - [37] Nampoothiri KM, Nair NR, John RP. An overview of the recent developments in polylactide (PLA) research. *Bioresour Technol* 2010;101:8493–501. doi:10.1016/j.biortech.2010.05.092.
 - [38] Ebadi-Dehaghani H, Khonakdar HA, Barikani M, Jafari SH. Experimental and theoretical analyses of mechanical properties of PP/PLA/clay nanocomposites. *Compos Part B Eng* 2015;69:133–44. doi:10.1016/j.compositesb.2014.09.006.
 - [39] Torres-huerta AM, Palma-ramírez D, Domínguez-Crespo MA, Del Angel-López D. Comparative assessment of miscibility and degradability on PET/PLA and PET/chitosan blends. *Eur Polym J* 2014;61:285–99. doi:10.1016/j.eurpolymj.2014.10.016.
 - [40] Auras R, Harte B, Selke S. An overview of polylactides as packaging materials. *Macromol Biosci* 2004;4:835–64. doi:10.1002/mabi.200400043.
 - [41] Lunt J. Large-scale production, properties and commercial applications of

- polylactic acid polymers. *Polym Degrad Stab* 1998;59:145–52. doi:10.1016/S0141-3910(97)00148-1.
- [42] Savioli Lopes M, Jardini a. L, Maciel Filho R. Poly (lactic acid) production for tissue engineering applications. *Procedia Eng* 2012;42:1402–13. doi:10.1016/j.proeng.2012.07.534.
- [43] Ozkoc G, Kemaloglu S. Morphology, biodegradability, mechanical, and thermal properties of nanocomposites films based on PLA and plasticized PLA. *J Appl Polym Sci* 2009;114:2481–7. doi:10.1002/app.30772.
- [44] Hwang SW, Shim JK, Selke SE, Soto-Valdez H, Matuana L, Rubino M, et al. Poly(L-lactic acid) with added α -tocopherol and resveratrol: Optical, physical, thermal and mechanical properties. *Polym Int* 2012;61:418–25. doi:10.1002/pi.3232.
- [45] Shi D, Hua J, Zhang L, Chen M. Synthesis of bio-based poly(lactic acid-co-10-hydroxy decanoate) copolymers with high thermal stability and ductility. *Polymers (Basel)* 2015;7:468–83. doi:10.3390/polym7030468.
- [46] Badía JD, Strömberg E, Ribes-Greus A, Karlsson S. Assessing the MALDI-TOF MS sample preparation procedure to analyze the influence of thermo-oxidative ageing and thermo-mechanical degradation on poly (Lactide). *Eur Polym J* 2011;47:1416–28. doi:10.1016/j.eurpolymj.2011.05.001.
- [47] Lim L-T, Auras R, Rubino M. Processing technologies for poly(lactic acid). *Prog Polym Sci* 2008;33:820–52. doi:10.1016/j.progpolymsci.2008.05.004.
- [48] Conn RE, Kolstad JJ, Borzelleca JF, Dixler DS, Filer Jr LJ, LaDu BN, et al. Safety assessment of polylactide (PLA) for use as a food-contact polymer. *Food Chem Toxicol* 1995;33:273–83. doi:10.1016/0278-6915(94)00145-E.
- [49] Bolufer NB. Desarrollo de bionanocompuestos en base a poli(ácido láctico) y plastificantes de alta compatibilidad para el envasado de alimentos. Universidad de Alicante, 2013.
- [50] Lasprilla AJR, Martinez GAR, Lunelli BH, Jardini AL, Maciel Filho R. Poly-lactic acid synthesis for application in biomedical devices - A review. *Biotechnol Adv* 2012;30:321–8. doi:10.1016/j.biotechadv.2011.06.019.
- [51] Abdel-Rahman MA, Tashiro Y, Sonomoto K. Recent advances in lactic acid production by microbial fermentation processes. *Biotechnol Adv* 2013;31:877–

902. doi:10.1016/j.biotechadv.2013.04.002.
- [52] Zhang Y, Vadlani P V. Lactic acid production from biomass-derived sugars via co-fermentation of *Lactobacillus brevis* and *Lactobacillus plantarum*. *J Biosci Bioeng* 2015;119:694–9. doi:10.1016/j.jbiosc.2014.10.027.
 - [53] Arrieta MP, Parres-García FJ, López-Martínez J, Navarro-Vidal R, Ferrándiz S. Pirólisis de residuos de bioplásticos: Productos obtenidos del ácido poliláctico (PLA). *Dyna* 2012;87:395–9.
 - [54] Auras R, Harte B, Selke S. Polylactides. A new era of biodegradable polymers for packaging application. *Annu. Tech. Conf.*, vol. 8, 2005, p. 3240–4.
 - [55] Calabia BP, Tokiwa Y, Ugwu CU, Aiba S. Biodegradation. In: Auras R, Lim L-T, Selke SEM, Tsuji H, editors. *Poly(Lactic Acid) Synth. Struct. Prop. Process. Appl.*, John Wiley & Sons; 2010, p. 423–30.
 - [56] Song JH, Murphy RJ, Narayan R, Davies GBH. Biodegradable and compostable alternatives to conventional plastics. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2009;364:2127–39. doi:10.1098/rstb.2008.0289.
 - [57] Jacobsen S, Fritz HG, Degée P, Dubois P, Jérôme R. New developments on the ring opening polymerisation of polylactide. *Ind Crops Prod* 2000;11:265–75. doi:10.1016/S0926-6690(99)00053-9.
 - [58] Vink ETH, Glassner DA, Kolstad JJ, Wooley RJ, O'Connor RP. The eco-profiles for current and near-future NatureWorks™ polylactide (PLA) production. *Ind Biotechnol* 2007;3:58–81. doi:10.1089/ind.2007.3.058.
 - [59] Vink ETH, Rábago KR, Glassner DA, Springs B, O'Connor RP, Kolstad J, et al. The sustainability of NatureWorks™ polylactide polymers and Ingeo™ polylactide fibers: an update of the future. *Macromol Biosci* 2004;4:551–64. doi:10.1002/mabi.200400023.
 - [60] John RP, G.S. A, Nampoothiri KM, Pandey A. Direct lactic acid fermentation: Focus on simultaneous saccharification and lactic acid production. *Biotechnol Adv* 2009;27:145–52. doi:10.1016/j.biotechadv.2008.10.004.
 - [61] Arias Zabala M, Henao Navarrete L, Castrillón Gutiérrez Y. Lactic acid production by fermentation of coffee mucilage with *Lactobacillus bulgaricus* NRRL-B548. *Dyna* 2009;76:147–53.

- [62] Vink ETH, Rábago KR, Glassner DA, Gruber PR. Applications of life cycle assessment to NatureWorks™ polylactide (PLA) production. *Polym Degrad Stab* 2003;80:403–19. doi:10.1016/S0141-3910(02)00372-5.
- [63] Ding S, Tan T. L-lactic acid production by *Lactobacillus casei* fermentation using different fed-batch feeding strategies. *Process Biochem* 2006;41:1451–4. doi:10.1016/j.procbio.2006.01.014.
- [64] Kadam SR, Patil SS, Bastawde KB, Khire JM, Gokhale D V. Strain improvement of *Lactobacillus delbrueckii* NCIM 2365 for lactic acid production. *Process Biochem* 2006;41:120–6. doi:10.1016/j.procbio.2005.06.007.
- [65] Rasal RM, Janorkar A V., Hirt DE. Poly(lactic acid) modifications. *Prog Polym Sci* 2010;35:338–56. doi:10.1016/j.progpolymsci.2009.12.003.
- [66] Norazlina H, Kamal Y. Graphene modifications in polylactic acid nanocomposites: a review. *Polym Bull* 2015;72:931–61. doi:10.1007/s00289-015-1308-5.
- [67] Sin LT, Rahmat AR, Rahman WAWA. Synthesis and production of poly(lactic acid). *Polylactic Acid*. 1st ed., William Andrew; 2013, p. 71–107. doi:10.1016/B978-1-4377-4459-0.00002-0.
- [68] Södergård A, Stolt M. Properties of lactic acid based polymers and their correlation with composition. *Prog Polym Sci* 2002;27:1123–63. doi:10.1016/S0079-6700(02)00012-6.
- [69] Garlotta D. A literature review of poly(lactic acid). *J Polym Environ* 2001;9:63–84. doi:10.1023/A:1020200822435.
- [70] Sin LT, Rahmat AR, Rahman WAWA. Chemical properties of poly(lactic acid). *Polylactic Acid*. 1st ed., William Andrew; 2013, p. 143–76. doi:10.1016/B978-1-4377-4459-0.00004-4.
- [71] Raquez JM, Habibi Y, Murariu M, Dubois P. Polylactide (PLA)-based nanocomposites. *Prog Polym Sci* 2013;38:1504–42. doi:10.1016/j.progpolymsci.2013.05.014.
- [72] Saeidlou S, Huneault M a., Li H, Park CB. Poly(lactic acid) crystallization. *Prog Polym Sci* 2012;37:1657–77. doi:10.1016/j.progpolymsci.2012.07.005.
- [73] Dammer L, Carus M, Raschka A, Scholz L. Market Developments of and Opportunities for biobased products and chemicals. *Mark Trends Bio-Based Prod*

- 2013;1–69.
- [74] Van Wouwe P, Dusselier M, Başıç A, Sels BF. Bridging racemic lactate esters with stereoselective polylactic acid using commercial lipase catalysis. *Green Chem* 2013;15:2817–24. doi:10.1039/c3gc41457d.
 - [75] Shen L, Haufe J, Patel MK. Product overview and market projection of emerging bio-based plastics. Utrecht: 2009.
 - [76] Guinault A, Sollogoub C, Ducruet V, Domenek S. Impact of crystallinity of poly(lactide) on helium and oxygen barrier properties. *Eur Polym J* 2012;48:779–88. doi:10.1016/j.eurpolymj.2012.01.014.
 - [77] Shah AA, Hasan F, Hameed A, Ahmed S. Biological degradation of plastics: A comprehensive review. *Biotechnol Adv* 2008;26:246–65. doi:10.1016/j.biotechadv.2007.12.005.
 - [78] Kataria S, Jajoo A, Guruprasad KN. Impact of increasing Ultraviolet-B (UV-B) radiation on photosynthetic processes. *J Photochem Photobiol B Biol* 2014;137:55–66. doi:10.1016/j.jphotobiol.2014.02.004.
 - [79] Fereydoon M, Ebnesajjad S. Development of high-barrier film for food packaging. *Plast. Film. Food Packag. First Edit, Elsevier Inc.;* 2013, p. 71–92. doi:http://dx.doi.org/10.1016/B978-1-4557-3112-1.00005-3.
 - [80] Praprudivongs C, Sombatsompop N, Jayaraman K. Effect of organoclay incorporation on mechanical , barrier and thermal properties and anti-bacterial performance of PLA and PLA composites with triclosan and wood flour. *Polym Polym Compos* 2014;22:643–53.
 - [81] Ducruet V, Domenek S, Guinault A, Courgneau C, Bernasconi M, Plessis C. Barrier properties of PLA towards oxygen and aroma compounds. *Ital J Food Sci* 2011;23:59–62.
 - [82] Vergnaud JM. Problems encountered for food safety with polymer packages: chemical exchange, recycling. *Adv Colloid Interface Sci* 1998;78:267–97. doi:10.1016/S0001-8686(98)00065-7.
 - [83] Gnanasekharan V, Floros JD. Migration and sorption phenomena in packaged foods. *Crit Rev Food Sci Nutr* 1997;37:519–59.
 - [84] Tehrany E a, Desobry S. Partition coefficients in food/packaging systems: a review.

- Food Addit Contam 2004;21:1186–202. doi:10.1080/02652030400019380.
- [85] Caner BC. Sorption phenomena in packaged foods: Factors affecting sorption processes in package–product systems. *Packag Technol Sci* 2011;24:259–70. doi:10.1002/pts.935.
- [86] Auras RA. Solubility of gases and vapors in polylactide. In: Letcher TM, editor. *Thermodyn. Solubility Environ. Issues*, Elsevier B.V.; 2007, p. 343–68.
- [87] Hamad K, Kaseem M, Yang HW, Deri F, Ko YG. Properties and medical applications of polylactic acid: A review. *Express Polym Lett* 2015;9:435–55. doi:10.3144/expresspolymlett.2015.42.
- [88] Cocca M, Lorenzo ML Di, Malinconico M, Frezza V. Influence of crystal polymorphism on mechanical and barrier properties of poly(L-lactic acid). *Eur Polym J* 2011;47:1073–80. doi:10.1016/j.eurpolymj.2011.02.009.
- [89] Xu Z, Su L, Jiang S, Gu W, Peng M, Wang P. Crystallization behavior and water vapor permeability of poly(lactic acid) nanocomposite under oscillatory shear. *J Appl Polym Sci* 2015;1–8. doi:10.1002/app.42321.
- [90] Liu G-C, He Y-S, Zeng J-B, Xu Y, Wang Y-Z. In situ formed crosslinked polyurethane toughened polylactide. *Polym Chem* 2014;5:2530–9. doi:10.1039/c3py01649h.
- [91] Sin LT, Rahmat AR, Rahman WAWA. Mechanical properties of poly(lactic acid). *Polylactic Acid*. 1st ed., William Andrew; 2013, p. 177–219. doi:10.1016/B978-1-4377-4459-0.00005-6.
- [92] Burgos N, Martino VP, Jiménez A. Characterization and ageing study of poly(lactic acid) films plasticized with oligomeric lactic acid. *Polym Degrad Stab* 2013;98:651–8. doi:10.1016/j.polymdegradstab.2012.11.009.
- [93] Agrawal AK, Bhalla R. Advances in the production of poly(lactic acid) fibers. A review. *J Macromol Sci Part C Polym Rev* 2003;43:479–503. doi:10.1081/MC-120025975.
- [94] Tsuji H. Poly(lactide) stereocomplexes: Formation, structure, properties, degradation, and applications. *Macromol Biosci* 2005;5:569–97. doi:10.1002/mabi.200500062.
- [95] Biggs DL, Lengsfeld CS, Hybertson BM, Ng K-Y, Manning MC, Randolph TW. In vitro and in vivo evaluation of the effects of PLA microparticle crystallinity on cellular

- response. *J Control Release* 2003;92:147–61. doi:10.1016/S0168-3659(03)00325-0.
- [96] Dorgan JR, Janzen J, Clayton MP, Hait SB, Knauss DM. Melt rheology of variable L-content poly(lactic acid). *J Rheol (N Y N Y)* 2005;49:607–19. doi:10.1122/1.1896957.
- [97] Sin LT, Rahmat AR, Rahman WAWA. Thermal properties of poly(lactic acid). *Polylactic Acid*. 1st ed., William Andrew; 2013, p. 109–41. doi:10.1016/B978-1-4377-4459-0.00003-2.
- [98] Di Lorenzo ML. Crystallization behavior of poly(L-lactic acid). *Eur Polym J* 2005;41:569–75. doi:10.1016/j.eurpolymj.2004.10.020.
- [99] Kawai T, Rahman N, Matsuba G, Nishida K, Kanaya T, Nakano M, et al. Crystallization and melting behavior of poly (L-lactic acid). *Macromolecules* 2007;40:9463–9. doi:10.1021/ma070082c.
- [100] Chen X, Han L, Zhang T, Zhang J. Influence of crystal polymorphism on crystallinity calculation of poly (L-lactic acid) by infrared spectroscopy. *Vib Spectrosc* 2014;70:1–5. doi:10.1016/j.vibspec.2013.10.003.
- [101] Zhang J, Tashiro K, Tsuji H, Domb AJ. Disorder-to-order phase transition and multiple melting behavior of poly(L-lactide) investigated by simultaneous measurements of WAXD and DSC. *Macromolecules* 2008;41:1352–7. doi:10.1021/ma0706071.
- [102] Jia Z, Tan J, Han C, Yang Y, Dong L. Poly(ethylene glycol-co-propylene glycol) as a macromolecular plasticizing agent for polylactide: Thermomechanical properties and aging. *J Appl Polym Sci* 2009;114:1105–17. doi:10.1002/app.30638.
- [103] Zhang J, Sato H, Tsuji H, Noda I, Ozaki Y. Infrared spectroscopic study of CH₃...O=C interaction during poly(L-lactide)/poly(D-lactide) stereocomplex formation. *Macromolecules* 2005;38:1822–8. doi:10.1021/ma047872w.
- [104] Sarasua JR, Arraiza AL, Balerdi P, Maiza I. Crystallinity and mechanical properties of optically pure polylactides and their blends. *Polym Eng Sci* 2005;45:745–53. doi:10.1002/pen.20331.
- [105] Tsuji H. Hydrolytic Degradation. In: Auras R, Lim L-T, Selke SEM, Tsuji H, editors. *Poly(Lactic Acid) Synth. Struct. Prop. Process. Appl.*, New Jersey: Wiley; 2010, p.

345–81.

- [106] Nishida H. Thermal Degradation. In: Auras R, Lim L-T, Selke SEM, Tsuji H, editors. Poly(Lactic Acid) Synth. Struct. Prop. Process. Appl., New Jersey: Wiley; 2010, p. 401–12.
- [107] Martino VP, Jiménez A, Ruseckaite RA, Avérous L. Structure and properties of clay nano-biocomposites based on poly(lactic acid) plasticized with polyadipates. Polym Adv Technol 2011;22:2206–13. doi:10.1002/pat.1747.
- [108] Melo JDD, de Carvalho Costa TC, de Medeiros AM, Paskocimas CA. Effects of thermal and chemical treatments on physical properties of kaolinite. Ceram Int 2010;36:33–8. doi:10.1016/j.ceramint.2009.06.017.
- [109] Randazzo CL, Fava G, Tomaselli F, Romeo F V., Pennino G, Vitello E, et al. Effect of kaolin and copper based products and of starter cultures on green table olive fermentation. Food Microbiol 2011;28:910–9. doi:10.1016/j.fm.2010.12.004.
- [110] Motlagh AL, Bastani S, Hashemi MM. Investigation of synergistic effect of nano sized Ag/TiO₂ particles on antibacterial, physical and mechanical properties of UV-curable clear coatings by experimental design. Prog Org Coatings 2014;77:502–11. doi:10.1016/j.porgcoat.2013.11.014.
- [111] Li J, Zheng W, Li L, Zheng Y, Lou X. Thermal degradation kinetics of g-HA/PLA composite. Thermochim Acta 2009;493:90–5. doi:10.1016/j.tca.2009.04.009.
- [112] Llorens A, Lloret E, Picouet PA, Trbojevich R, Fernandez A. Metallic-based micro and nanocomposites in food contact materials and active food packaging. Trends Food Sci Technol 2012;24:19–29. doi:10.1016/j.tifs.2011.10.001.
- [113] Manalili NM, Dorado MA, Otterdijk R van. Appropriate food packaging solutions for developing countries. Food Agric Organ United Nations 2014:1–38. <http://www.fao.org/docrep/015/mb061e/mb061e00.pdf> (accessed June 24, 2015).
- [114] Peelman N, Ragaert P, De Meulenaer B, Adons D, Peeters R, Cardon L, et al. Application of bioplastics for food packaging. Trends Food Sci Technol 2013;32:128–41. doi:10.1016/j.tifs.2013.06.003.
- [115] Organisation WP. Position Paper - Market Trends and Developments. WPO 2008:1–6.

- http://www.worldpackaging.org/i4a/doclibrary/index.cfm?category_id=1
(accessed June 24, 2015).
- [116] Morone P, Tartiu VE, Falcone P. Assessing the potential of biowaste for bioplastics production through social network analysis. *J Clean Prod* 2015;90:43–54. doi:10.1016/j.jclepro.2014.11.069.
 - [117] Shen L, Worrell E, Patel M. Present and future development in plastics from biomass. *Biofuels, Bioprod Biorefining* 2010;4:25–40. doi:10.1002/bbb.189.
 - [118] Treviso A, Van Genechten B, Mundo D, Tournour M. Damping in Composite Materials: Properties and Models. *Compos Part B Eng* 2015;78:144–52. doi:10.1016/j.compositesb.2015.03.081.
 - [119] Pinnavaia TJ, Beall GW. *Polymer-Clay Nanocomposites*. Inglaterra: Wiley: West Sussex; 2000.
 - [120] Smith WF. Materiales compuestos. In: Figuera S, editor. *Cienc. e Ing. Mater.* 3rd ed., Madrid: McGraw-Hill; 2004, p. 371–408.
 - [121] Callister WD. Introducción. *Introd. a la Cienc. e Ing. los Mater.*, Reverté; 1995, p. 1–6.
 - [122] Buzarovska A. PLA nanocomposites with functionalized TiO₂ nanoparticles. *Polym Plast Technol Eng* 2013;52:280–6. doi:10.1080/03602559.2012.751411.
 - [123] Poole CP, Owens FJ. *Introducción a la nanotecnología*. Barcelona: 2007.
 - [124] Chen B. Polymer–clay nanocomposites: an overview with emphasis on interaction mechanisms. *Br Ceram Trans* 2004;103:241–9. doi:10.1179/096797804X4592.
 - [125] Sozer N, Kokini JL. Nanotechnology and its applications in the food sector. *Trends Biotechnol* 2009;27:82–9. doi:10.1016/j.tibtech.2008.10.010.
 - [126] Tolle TB, Anderson DP. Morphology development in layered silicate thermoset nanocomposites. *Compos Sci Technol* 2002;62:1033–41.
 - [127] Kotsilkova R, Petkova V, Pelovski Y. Thermal analysis of polymer-silicate nanocomposites. *J Therm Anal Calorim* 2001;64:591–8. doi:10.1023/A:1011563521316.
 - [128] Alexandre M, Dubois P. Polymer-layered silicate nanocomposites: preparation, properties and uses of a new class of materials. *Mater Sci Eng R Reports* 2000;28:1–63. doi:10.1016/S0927-796X(00)00012-7.

- [129] Wan C, Qiao X, Zhang Y, Zhang Y. Effect of different clay treatment on morphology and mechanical properties of PVC-clay nanocomposites. *Polym Test* 2003;22:453–61. doi:10.1016/S0142-9418(02)00126-5.
- [130] Cabedo L, Giménez E, Lagaron JM, Gavara R, Saura JJ. Development of EVOH-kaolinite nanocomposites. *Polymer (Guildf)* 2004;45:5233–8. doi:10.1016/j.polymer.2004.05.018.
- [131] Chivrac F, Pollet E, Avérous L. Progress in nano-biocomposites based on polysaccharides and nanoclays. *Mater Sci Eng R* 2009;67:1–17. doi:10.1016/j.mser.2009.09.002.
- [132] Hackman I, Hollaway L. Epoxy-layered silicate nanocomposites in civil engineering. *Compos Part A Appl Sci Manuf* 2006;37:1161–70. doi:10.1016/j.compositesa.2005.05.027.
- [133] M. C. de Azeredo H. Nanocomposites for food packaging applications. *Food Res Int* 2009;42:1240–53. doi:10.1016/j.foodres.2009.03.019.
- [134] Beyer G. Nanocomposites: a new class of flame retardants for polymers. *Plast Addit Compd* 2002;4:22–8. doi:10.1016/S1464-391X(02)80151-9.
- [135] Chin I-J, Thurn-Albrecht T, Kim H-C, Russell TP, Wang J. On exfoliation of montmorillonite in epoxy. *Polymer (Guildf)* 2001;42:5947–52. doi:10.1016/S0032-3861(00)00898-3.
- [136] Rhim J-W, Park H-M, Ha C-S. Bio-nanocomposites for food packaging applications. *Prog Polym Sci* 2013;38:1629–52. doi:10.1016/j.progpolymsci.2013.05.008.
- [137] Alcântara ACS, Darder M, Aranda P, Ruiz-Hitzky E. Polysaccharide-fibrous clay bionanocomposites. *Appl Clay Sci* 2014;96:2–8. doi:10.1016/j.clay.2014.02.018.
- [138] Arrieta MP, Fortunati E, Dominici F, López J, Kenny JM. Bionanocomposite films based on plasticized PLA–PHB/cellulose nanocrystal blends. *Carbohydr Polym* 2015;121:265–75. doi:10.1016/j.carbpol.2014.12.056.
- [139] Ojijo V, Sinha Ray S. Processing strategies in bionanocomposites. *Prog Polym Sci* 2013;38:1543–89. doi:10.1016/j.progpolymsci.2013.05.011.
- [140] Avérous L, Pollet E. Green Nano-Biocomposites. In: Avérous L, Pollet E, editors. *Environ. Silic. Nano-Biocomposites*, vol. 50, Springer; 2012, p. 1–11. doi:10.1007/978-1-4471-4108-2_1.

- [141] Kiliaris P, Papaspyrides CD. Polymer/layered silicate (clay) nanocomposites: An overview of flame retardancy. *Prog Polym Sci* 2010;35:902–58. doi:10.1016/j.progpolymsci.2010.03.001.
- [142] Pavlidou S, Papaspyrides CD. A review on polymer-layered silicate nanocomposites. *Prog Polym Sci* 2008;33:1119–98. doi:10.1016/j.progpolymsci.2008.07.008.
- [143] Ray SS, Okamoto M. Polymer/layered silicate nanocomposites: a review from preparation to processing. *Prog Polym Sci* 2003;28:1539–641. doi:10.1016/j.progpolymsci.2003.08.002.
- [144] Ray SS, Yamada K, Okamoto M, Ueda K. New polylactide-layered silicate nanocomposites. 2. Concurrent improvements of material properties, biodegradability and melt rheology. *Polymer (Guildf)* 2003;44:857–66.
- [145] Mittal V. Polymer layered silicate nanocomposites: A review. *Materials* 2009;2:992–1057. doi:10.3390/ma2030992.
- [146] Haq A, Iqbal Y, Khan MR. Historical development in the classification of kaolin subgroup. *J Pakistan Mater Soc* 2008;2:44–9.
- [147] Bartolomé JF. El Caolín: composición, estructura, génesis y aplicaciones. *Bol La Sociendad Española Cerámica Y Vidr* 1997;36:7–19.
- [148] Leixas Capitaneo J, Teixeira da Silva F, Fontes Vieira CM, Neves Monteiro S, Da Rocha Caffarena V. Method to separate nanometric particles of clays. *J Metastable Nanocrystalline Mater* 2004;20-21:665–70.
- [149] de Paiva LB, Morales AR, Valenzuela Díaz FR. Organoclays: Properties, preparation and applications. *Appl Clay Sci* 2008;42:8–24. doi:10.1016/j.clay.2008.02.006.
- [150] Han JH. Emerging Technologies in Food Packaging. *Plast. Film. Food Packag., Elsevier*; 2013, p. 121–6. doi:10.1016/B978-1-4557-3112-1.00007-7.
- [151] Sánchez-González L, Vargas M, González-Martínez C, Chiralt A, Cháfer M. Use of Essential Oils in Bioactive Edible Coatings. *Food Eng Rev* 2011;3:1–16.
- [152] Picard E, Espuche E, Fulchiron R. Effect of an organo-modified montmorillonite on PLA crystallization and gas barrier properties. *Appl Clay Sci* 2011;53:58–65. doi:10.1016/j.clay.2011.04.023.
- [153] Realini CE, Marcos B. Active and intelligent packaging systems for a modern

- society. Meat Sci 2014;98:404–19. doi:10.1016/j.meatsci.2014.06.031.
- [154] Fortunati E, Armentano I, Iannoni A, Barbale M, Zaccaro S, Scavone M, et al. New multifunctional poly(lactide acid) composites: Mechanical, antibacterial, and degradation properties. J Appl Polym Sci 2012;124:87–98. doi:10.1002/app.35039.
- [155] No HK, Meyers SP, Prinyawiwatukul W, Xu Z. Applications of Chitosan for Improvement of Quality and Shelf Life of Foods: A Review. J Food Sci 2007;72:R87–100. doi:10.1111/j.1750-3841.2007.00383.x.
- [156] Falguera V, Quintero JP, Jiménez A, Muñoz JA, Ibarz A. Edible films and coatings: Structures, active functions and trends in their use. Trends Food Sci Technol 2011;22:292–303. doi:10.1016/j.tifs.2011.02.004.
- [157] Rooney ML. Introduction to active food packaging technologies. Plast. Film. Food Packag., Elsevier Inc.; 2005, p. 127–38. doi:10.1016/B978-012311632-1/50037-1.
- [158] Han P, Butterfield J, Price M, Buchanan S, Murphy A. Experimental investigation of thermoforming carbon fibre-reinforced polyphenylene sulphide composites. J Thermoplast Compos Mater 2015;28:529–47. doi:10.1177/0892705713486133.
- [159] Stephenson MJ, Ryan ME. Experimental study of the thermoforming of a blend of styrene-butadiene copolymer with polystyrene. Polym Eng Sci 1997;37:450–9.
- [160] Aroujalian A, Ngadi MO, Emond J-P. Effect of Processing Parameters on Compression Resistance of a Plug-Assist Vacuum Thermoformed Container. Adv Polym Technol 1997;16:129–34.
- [161] Gimenez E, Lagaron JM, Cabedo L, Gavara R, Saura JJ. Study of the thermoformability of ethylene-vinyl alcohol copolymer based barrier blends of interest in food packaging applications. J Appl Polym Sci 2004;96:3851–5.
- [162] Coma V. Bioactive packaging technologies for extended shelf life of meat-based products. Meat Sci 2008;78:90–103. doi:10.1016/j.meatsci.2007.07.035.
- [163] Vermeiren L, Devlieghere F, Van Beest M, De Kruijf N, Debevere J. Developments in the active packaging of foods. Trends Food Sci Technol 1999;10:77–86. doi:10.1016/S0924-2244(99)00032-1.
- [164] Han JH. Antimicrobial packaging systems. Plast. Film. Food Packag., Elsevier Inc.; 2013, p. 151–80. doi:10.1016/B978-0-12-394601-0.00007-2.

- [165] Wren AW, Adams BM, Pradhan D, Towler MR, Mellott NP. Titanium-vanadium oxide nanocomposite thin films: synthesis, characterization and antibacterial activity. *Mater Chem Phys* 2014;144:538–46.
- [166] Shi H, Magaye R, Castranova V, Zhao J. Titanium dioxide nanoparticles: a review of current toxicological data. *Part Fibre Toxicol* 2013;10:1–33.
- [167] Chen Z, Wang Y, Zhuo L, Chen S, Zhao L, Chen T, et al. Interaction of titanium dioxide nanoparticles with glucose on young rats after oral administration. *Nanomedicine Nanotechnology, Biol Med* 2015:1–10. doi:10.1016/j.nano.2015.06.002.
- [168] Luo YB, Wang XL, Xu DY, Wang YZ. Preparation and characterization of poly(lactic acid)-grafted TiO₂ nanoparticles with improved dispersions. *Appl Surf Sci* 2009;255:6795–801. doi:10.1016/j.apsusc.2009.02.074.
- [169] Buzarovska A, Grozdanov A. Biodegradable poly (L-lactic acid)/TiO₂ nanocomposites : thermal properties and degradation. *J Appl Polym Sci* 2012. doi:10.1002/app.34729.
- [170] Abdullah N, Kamarudin SK. Titanium dioxide in fuel cell technology: An overview. *J Power Sources* 2015;278:109–18. doi:10.1016/j.jpowsour.2014.12.014.
- [171] Boccaccini AR, Gerhardt L-C, Rebeling S, Blaker JJ. Fabrication, characterisation and assessment of bioactivity of poly(D,L lactid acid) (PDLLA)/TiO₂ nanocomposite films. *Compos Part A Appl Sci Manuf* 2005;36:721–7. doi:10.1016/j.compositesa.2004.11.002.
- [172] Thamaphat K, Limsuwan P, Ngotawornchai B. Phase characterization of TiO₂ powder by XRD and TEM. *Kasetsart J (Nat Sci)* 2008;42:357–61.
- [173] Pang YL, Lim S, Ong HC, Chong WT. A critical review on the recent progress of synthesizing techniques and fabrication of TiO₂-based nanotubes photocatalysts. *Appl Catal A Gen* 2014;481:127–42. doi:10.1016/j.apcata.2014.05.007.
- [174] Lappas CM. The immunomodulatory effects of titanium dioxide and silver nanoparticles. *Food Chem Toxicol* 2015:1–6. doi:10.1016/j.fct.2015.05.015.
- [175] Diebold U. The surface science of titanium dioxide. *Surf Sci Rep* 2003;48:53–229.
- [176] Baan R, Straif K, Grosse Y, Secretan B, El Ghissassi F, Cogliano V, et al. Carcinogenicity of carbon black, titanium dioxide, and talc. *Lancet Oncol*

- 2006;7:295–6. doi:10.1016/S1470-2045(06)70651-9.
- [177] Shukla RK, Sharma V, Pandey AK, Singh S, Sultana S, Dhawan A. ROS-mediated genotoxicity induced by titanium dioxide nanoparticles in human epidermal cells. *Toxicol Vitr* 2011;25:231–41. doi:10.1016/j.tiv.2010.11.008.
- [178] Liu M, Cheng Z, Yan J, Qiang L, Ru X, Liu F, et al. Preparation and characterization of TiO₂ nanofibers via using polylactic acid as template. *J Appl Polym Sci* 2013;128:1095–100. doi:10.1002/app.38166.
- [179] Rollerova E, Tulinska J, Liskova A, Kuricova M, Kovriznych J, Mlynarcikova A, et al. Titanium dioxide nanoparticles: some aspects of toxicity/focus on the development. *Endocr Regul* 2015;49:97–112.
- [180] Verleysen E, De Temmerman PJ, Van Doren E, Abi Daoud Francisco M, Mast J. Quantitative characterization of aggregated and agglomerated titanium dioxide nanomaterials by transmission electron microscopy. *Powder Technol* 2014;258:180–8. doi:10.1016/j.powtec.2014.03.010.
- [181] Chen X, Liu L, Huang F. Black titanium dioxide (TiO₂) nanomaterials. *Chem Soc Rev* 2015;44:1861–85. doi:10.1039/C4CS00330F.
- [182] Middlemas S, Fang ZZ, Fan P. Life cycle assessment comparison of emerging and traditional Titanium dioxide manufacturing processes. *J Clean Prod* 2015;89:137–47. doi:10.1016/j.jclepro.2014.11.019.
- [183] Jovanović B. Critical review of public health regulations of titanium dioxide, a human food additive. *Integr Environ Assess Manag* 2015;11:10–20. doi:10.1002/ieam.1571.

Capítulo 2

Objetivos y estructura de la tesis doctoral

2.1	Objetivo general.....	2-3
2.2	Objetivos específicos.....	2-3
2.3	Estructura de la tesis doctoral.....	2-3



2.1.- Objetivo general

Preparar películas biodegradables basadas en ácido poliláctico (PLA) y evaluar sus propiedades tras la incorporación de nanopartículas de caolín y dióxido de titanio (TiO_2).

2.2.- Objetivos específicos

Para tal fin se han planteado una serie de objetivos específicos que se describen a continuación:

- ✚ Preparar películas de PLA y PLA rellenas con caolín y dióxido de titanio, TiO_2 (materiales nanocompuestos) mediante diferentes métodos de procesamiento: molienda de bolas de alta energía (High energy ball milling, HEBM) y disolución y evaporación del disolvente “solvent-casting”.
- ✚ Caracterizar los materiales nanocompuestos preparados mediante la realización de estudios morfológicos, estructurales, análisis térmico y comportamiento mecánico.
- ✚ Estudiar el efecto de las condiciones de molienda en el caso al preparar materiales nanocompuestos de PLA/Caolín.
- ✚ Estudiar el efecto de nanopartículas de TiO_2 como relleno en PLA: influencia de i) propia presencia de nanopartículas; ii) tipo (tamaño) y iii) cantidad en las propiedades finales de los materiales nanocompuestos PLA/ TiO_2 .
- ✚ Estudio microbiológico asociado a la actividad bactericida de los materiales empleados: sistemas PLA/Caolín y PLA/ TiO_2 .

2.3.- Estructura de la tesis doctoral

El presente trabajo se ha estructurado en siete capítulos. En el primer capítulo se realiza una introducción donde se muestra la problemática existente en relación a los

materiales nanocompuestos con potencial actividad antimicrobiana. Posteriormente en el capítulo 2 se presentan de manera concisa los objetivos de la tesis junto con su estructura. En el capítulo 3 se presentan los materiales utilizados y sus principales propiedades. Además, se incluye la descripción de los métodos de preparación de los materiales nanocompuestos y las películas. Así mismo, se describen los métodos utilizados para realizar los diferentes tratamientos aplicados y las técnicas experimentales de caracterización empleadas para determinar sus propiedades físicas, térmicas y mecánicas.

Por otra parte, los resultados obtenidos y la discusión de los mismos se presentan en los capítulos 4, 5 y 6. En el 4, se agrupan los resultados obtenidos para el sistema de PLA/Caolín mientras que en el 5 se presentan los resultados obtenidos para los materiales nanocompuestos de PLA/TiO₂. Finalmente, en el capítulo 6 se presentan los resultados asociados a un estudio específico de caracterización estructural por espectroscopia infrarroja en el que se incluyen resultados novedosos correspondientes a análisis de correlación espectroscópica en dos dimensiones (2D) para los materiales nanocompuestos PLA/TiO₂.

En el capítulo 7 se presentan las conclusiones generales que se han podido extraer de esta investigación.

Capítulo 3

Parte Experimental

3.1 Técnicas y métodos	3-3
3.1.1 Difracción de rayos X, XRD	3-3
3.1.2 Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier mediante reflectancia total atenuada, ATR-FTIR	3-4
3.1.3 Microscopía	3-5
3.1.3.1 Microscopía electrónica de barrido, SEM	3-5
3.1.3.2 Microscopía de fuerza atómica, AFM	3-7
3.1.4 Técnicas termoanalíticas	3-8
3.1.4.1 Calorimetría diferencial de barrido, DSC	3-8
3.1.4.2 Análisis termogravimétrico, TGA	3-10
3.1.5 Análisis microbiológicos	3-10
3.1.6 Otras técnicas	3-12
3.1.6.1 Ensayos mecánicos	3-12
3.1.6.2 Molienda de bolas de alta energía, HEBM	3-13
3.2 Materiales	3-14
3.2.1 Ácido Poliláctico, PLA	3-14
3.2.2 Caolín	3-20
3.2.3 Dióxido de titanio, TiO ₂	3-25
3.2.4 Disolventes	3-27
3.2.5 Estudios microbiológicos	3-27
3.3 Preparación de muestras	3-28
3.3.1 Sistema polimérico A: PLA + Caolín.	3-28
3.3.2 Sistema polimérico B: PLA + TiO ₂	3-29
REFERENCIAS	3-30

3.1.- Técnicas y métodos

3.1.1.- Difracción de rayos X, XRD

La técnica de difracción de rayos X, o del inglés X ray diffraction (XRD) se empleó para la caracterización de los materiales de partida y de los materiales nanocompuestos preparados (véase el apartado 3.2). En particular, la difracción de rayos X se utilizó para identificar las distintas fases de las muestras estudiadas y de forma complementaria a otras técnicas de microscopía, como microscopía electrónica de barrido, SEM, y microscopía de fuerza atómica, AFM, para obtener información sobre la cristalinidad, morfología y dispersión de las nanopartículas en la matriz polimérica. Por tanto, en términos generales la XRD se utilizó para estudiar la estructura de los materiales preparados (véanse los capítulos 4 y 5). A partir de los datos obtenidos se pudo determinar la fracción cristalina de las muestras estudiadas mediante la utilización de la ecuación 3.1:

$$w_c = \frac{A_c}{A_c + A_a}$$

Ecuación 3.1

donde w_c es el grado o fracción de cristalinidad, A_c la suma de las áreas asociadas a los picos cristalinos y A_a el área bajo los picos amorfos [1,2].

Los estudios mencionados se llevaron a cabo en un difractómetro Philips X'pert operado a un voltaje de 40 kV y a una intensidad de 40 mA. La radiación utilizada ha sido procedente de la línea del cobre $K_{\alpha 1}$ (Cu) con longitud de onda $\lambda = 0,15406$ nm filtrada con un monocromador. Los difractogramas se realizaron a partir de un barrido por pasos entre $2\theta = 3^\circ$ - 50° . El tamaño de paso fue de $0,02^\circ$ y el tiempo de adquisición de 0,50 s. Se utilizó un soporte de muestra rectangular con dimensiones de $1 \times 2 \times 0,1$ cm³. Las muestras en forma de polvo se colocaron en portaobjetos de vidrio que promueven la orientación aleatoria de los fragmentos de cristal como muestra el esquema de preparación de las muestras en la Figura 3.1. La difracción de rayos X se llevó a cabo en diferentes áreas de cada muestra para verificar la reproducibilidad.

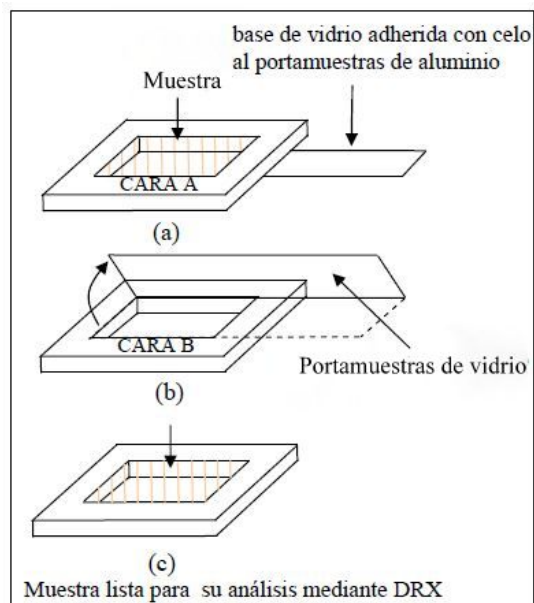


Figura 3.1.- Esquema de preparación de muestras para su observación por difracción de rayos X [3].

3.1.2.- Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier en modo de reflectancia total atenuada, ATR-FTIR

La espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier, o del inglés Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), se basa en la medida de la absorción por parte de grupos de átomos unidos por enlaces covalentes de radiación infrarroja activando de esta manera movimientos de vibración de átomos en torno a enlaces o grupos de enlaces [4]. Las principales ventajas que ofrece frente a las técnicas dispersivas son su resolución, pues modula la intensidad del haz a cada frecuencia y su rapidez de respuesta. Estas características la hacen especialmente adecuada para el seguimiento de reacciones y procesos, permitiendo realizar estudios cinéticos [5,6]. Un ejemplo son los estudios de procesos de difusión, como por ejemplo durante la absorción de agua en ciertos materiales [1,7,8].

En este trabajo, la espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier se utilizó para complementar o completar la información estructural obtenida a partir de la difracción de rayos X (véase apartado 3.2 y capítulos 4 y 5). Por otro lado, el ATR-FTIR se empleó

en el estudio de películas con espesores considerables que en FTIR convencional por transmisión no pueden ser estudiadas por saturación del detector. En particular, para estos estudios se utilizó un equipo Nicolette Avatar ATR-FTIR 360 a temperatura ambiente. Las condiciones espectrales se fijaron en 32 barridos entre 600 y 4000 cm^{-1} y una resolución de 4 cm^{-1} . El análisis de los espectros se realizó utilizando el programa OMNIC ESP software v5.1 (Nicolet).

Por otro lado, esta técnica también se empleó para estudiar la dinámica macromolecular del PLA. En este caso se trabajó en la región del infrarrojo cercano, FT-NIR, analizando sobretonos y bandas de combinación pues al ser menos intensas permiten que se pueda trabajar por transmisión con muestras relativamente gruesas. Para ello se realizó un seguimiento de los espectros en función de la temperatura, tanto para el PLA como de materiales nanocompuestos basados en PLA con nanopartículas de TiO_2 . Las muestras se colocaron entre dos portaobjetos de aluminio en el interior de una cámara SPECAC que controla la temperatura. Seguidamente se colocó en el compartimiento del infrarrojo y calentó de 30 a 170 $^{\circ}\text{C}$ a una velocidad de 2 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ y se mantuvo a esta temperatura durante 2 min. Los datos espectrales se fijaron en 20 barridos entre 5000 a 4000 cm^{-1} y una resolución de 4 cm^{-1} . Las medidas de FT-NIR se realizaron en un equipo Perkin Elmer Spectrum GX en la región del infrarrojo cercano.

3.1.3.- Microscopía

3.1.3.1.- Microscopía electrónica de barrido, SEM

La microscopía electrónica de barrido, o del inglés scanning electron microscopy (SEM), es una técnica que permite observar y obtener información morfológica y topográfica de la superficie de un material. Cuando un haz de electrones con una energía comprendida entre 1 y 50 eV se hace incidir sobre una muestra gruesa y opaca a los electrones, como consecuencia de la correspondiente interacción materia-radiación, pueden ocurrir diferentes fenómenos que generan diferentes tipos de señales. De entre todas ellas, para analizar los materiales bajo estudio se han empleado la de los electrones retrodispersados (backscattered electrons, BSE) y la de los electrones

secundarios (secondary electrons, SE). Los electrones retrodispersados son consecuencia de las interacciones de dispersión elástica entre la materia y la radiación y proporcionan fundamentalmente información topográfica aunque también composicional pues el número de electrones retrodispersados suele ser aproximadamente proporcional al número atómico de los elementos sobre los que inciden los electrones primarios; por este motivo se obtienen imágenes cuyo contraste proviene de la diferencia del número atómico de los átomos que conforman la muestra [4].

Por otro lado, los electrones secundarios se producen como consecuencia de las interacciones de tipo inelástico entre la materia y la radiación. En este caso, el contraste observado en las imágenes se asocia fundamentalmente a la topografía de la muestra, reflejándose los picos como zonas brillantes y los valles como zonas oscuras. En particular, se consideran electrones secundarios aquellos cuya energía es inferior a 50 eV [3,9]. Por tanto los estudios morfológicos mediante SEM se realizaron a partir de la distribución en las imágenes de los dominios con composiciones elementales diferentes cuya diferencia de contraste la genera la mayor o menor cantidad de electrones retrodispersados detectados.

Todos estos estudios junto con la inspección de la morfología en términos de la dispersión de partículas en los materiales compuestos se llevó a cabo mediante el uso de un microscopio electrónico de barrido Philips XL30 con analizador EDAX, que emplea un cañón de electrones de emisión termoiónica con filamento de Wolframio. Para la obtención de imágenes de superficie se utilizó la señal proveniente de los electrones retrodispersados (BSE) generados a partir de un haz de electrones primarios procedente de la aplicación de un voltaje de 10 y 15 kV, respectivamente. Las muestras en forma de polvo se colocaron sobre una cinta adhesiva (doble cara) de grafito en portamuestras adecuados para su observación y para evitar la acumulación de carga las muestras fueron posteriormente recubiertas mediante deposición catódica de oro (sputtering). Se obtuvieron imágenes a diferentes aumentos.

3.1.3.2.- Microscopía de fuerza atómica, AFM

El microscopio de fuerza atómica (AFM, de sus siglas en inglés atomic force microscopy) es un instrumento mecano-óptico capaz de detectar fuerzas del orden de los nano-Newtons, que pertenece a las denominadas técnicas de microscopía de barrido con sonda (scanning probe microscopy, SPM). Al rastrear una muestra, es capaz de registrar continuamente su topografía mediante una sonda o punta afilada de forma piramidal o cónica. La sonda va acoplada a una micropalanca de unos 100-200 μm de largo. El microscopio de fuerza atómica ha sido esencial en el desarrollo de la nanotecnología. Se distinguen tres modos de operación básicos, que son: (i) contacto, en el que la punta barre la superficie de la muestra, aplicando una fuerza constante y sin levantar la punta de la superficie; (ii) contacto intermitente o *"tapping"*, modo principal de trabajo empleado en el estudio de polímeros. En este modo se aplica una señal sinusoidal, haciendo oscilar la punta a su frecuencia de resonancia; (iii) no contacto, también se suministra una onda sinusoidal, pero sin llegar a tocar la superficie de la muestra. El microscopio de fuerza atómica permite la obtención de imágenes tridimensionales de la superficie de muestras tanto conductoras como aislantes.

La topografía a nanoescala se realizó utilizando un microscopio de fuerza atómica MultiMode Nanoscope IV operado en modo de contacto intermitente o también conocido como *"Tapping Mode"* de Veeco - Digital Instruments (en la actualidad adquirido por Bruker).

Se utilizó un voladizo (cantiléver) triangular micro-fabricado de longitud de 125 μm , de 0,01 hasta 0,025 Ohm-cm de Antimonio (n) dopado con Si. Se eligió una frecuencia de resonancia típica del voladizo a 320 kHz para hacerlo oscilar en modo de trabajo con el AFM *"tapping"* o contacto intermitente. Las imágenes de AFM se obtuvieron con un scanner tipo J con un alcance máximo de barrido de 100 x 100 μm^2 . Se emplearon puntas suministradas por Veeco con una constante de fuerza de 5 y 20-80 N/m. Para la preparación de las muestras se depositó un recorte de película de un área aproximada

de 1 cm² sobre un portamuestras de acero inoxidable de 12 mm de diámetro, adheridos previamente con adhesivo de cianoacrilato.

3.1.4.- Técnicas termoanalíticas

El término técnicas de análisis térmico se refiere a un grupo de técnicas en las que alguna propiedad físico-mecánicas de una sustancia se mide en función del tiempo o de la temperatura, mientras a la muestra es sometida a un programa de temperatura controlado [9,10]. La calorimetría diferencial de barrido (DSC) y la termogravimetría (TGA) son las técnicas más utilizadas de análisis térmico empleadas para la realización de diversos estudios y que se aplican a una amplia variedad de materiales [11].

3.1.4.1.- Calorimetría diferencial de barrido, DSC

La calorimetría diferencial de barrido, o del inglés differential scanning calorimetry (DSC), es una de las técnicas analíticas más empleadas en polímeros y adecuada para cuantificar la energía implicada en una transición térmica. Con esta técnica es posible estudiar procesos como la fusión, la cristalización y transiciones vítreas (T_g), además se pueden determinar calores específicos, entalpías de reacción y temperaturas de transición de fase [12].

Las mediciones de DSC se realizaron a fin de asegurar la misma historia térmica de todas las muestras. Dicho proceso consta de los siguientes pasos:

- a) Primer calentamiento de 40 a 200 °C a una velocidad de 100 °C/min, manteniéndose a 200 °C durante 5 min;
- b) Enfriamiento hasta 10 °C a 20 °C/min, manteniéndose a 10 °C durante 5 min y;
- c) El segundo calentamiento de 10 °C hasta 200 °C a 20 °C/min.

Los estudios de DSC revelaron algunas de las propiedades térmicas más importantes de las muestras, tales como la temperatura de transición vítrea (T_g), la temperatura de cristalinidad (T_c) y la temperatura de fusión (T_m).

Las muestras se prepararon en cápsulas selladas de aluminio con capacidad de 50 μ L, con una masa entre 5 y 10 mg. Como referencia se usó una cápsula de aluminio vacía y sellada.

Los valores de las temperaturas de transición vítrea de los distintos materiales se determinaron a partir del punto de inflexión de las curvas de DSC. Todos los datos de DSC que se presentan aquí son obtenidos dinámicamente en el segundo barrido de los ciclos térmicos respectivos.

Se calculó el grado de cristalinidad de las diferentes muestras (X) dividiendo las entalpías de cristalización del material semicristalino en frío (ΔH_{c-c}) o en la fusión (ΔH_{c-m}) de la entalpía de fusión del valor teórico del ácido poliláctico 100 % cristalino (ΔH_m^0) [13], según la ecuación 3.2:

$$X\% = 100 \frac{(\Delta H_{c-m} - \Delta H_{c-c})}{\Delta H_m^0} \quad \text{Ecuación 3.2}$$

Donde (X) representa el porcentaje de la fracción de masa de las nanopartículas. La entalpía de fusión cristalina ideal del PLA es: $\Delta H_m^0 = 93,6 \text{ J/g}$ [14].

En este estudio se utilizó un Calorímetro Mettler Toledo DSC882^e con control de temperatura y refrigeración con nitrógeno líquido. Las muestras se pesaron en una microbalanza Perkin Elmer AD-4 con una precisión de $\pm 0,005 \text{ mg}$ calibrada previamente con un patrón de platino de 100 mg.

3.1.4.2.- Análisis termogravimétrico, TGA

La termogravimetría o análisis termogravimétrico (TGA, de sus siglas en inglés thermo gravimetric analysis), es una técnica en la cual se mide la masa de una muestra en función del tiempo (experimentos isotermos) o de la temperatura (experimentos dinámicos), mientras la muestra está sometida a un programa de temperaturas controlado. Los cambios de masa sufridos por los materiales pueden ser debidos a reacciones químicas, procesos de descomposición, evaporación de disolventes, transiciones de Curie u oxidaciones. Por esta razón, es una técnica utilizada para estudiar procesos de termodescomposición y por ende la estabilidad térmica de materiales bajo determinadas condiciones, de esta manera se pueden evaluar cinéticas de los procesos físico-químicos que ocurren en la muestra por efecto de la temperatura y que dan lugar a variaciones de masa en la muestra bajo estudio.

A través de los resultados obtenidos por TGA, podemos obtener temperaturas relacionadas con la estabilidad térmica de los materiales, T_5 y T_{95} , definidas como las temperaturas en las cuales el 5 y 95 % de la masa total se volatiliza respectivamente, y T_p que es la temperatura en el que la degradación térmica ocurre con mayor velocidad o temperatura velocidad máxima de descomposición [15].

Esta técnica se utilizó para evaluar la pérdida de peso de la muestra frente a la temperatura y tiempo mediante un equipo TGA-SDTA 851 Mettler Toledo. El comportamiento de la degradación térmica de las muestras se registró con un calentamiento inicial desde la temperatura ambiente hasta 1000 °C a una velocidad de 10 °C/min bajo una atmósfera de Nitrógeno (N_2) de 20 ml/min.

3.1.5.- Análisis microbiológicos

La capacidad que tienen algunas bacterias de controlar algunas enfermedades fúngicas, entre ellas bacterias de los géneros *Bacillus* y *Pseudomonas*, ha sido demostrada en previos estudios. En particular, las *Pseudomonas ssp.*, que son habitantes comunes y

abundantes de la rizosfera, tienen la capacidad de inhibir o suprimir enfermedades de las plantas [16,17]. Del mismo modo, cuando las *Pseudomonas fluorescens* se aplican directamente en semillas o en tratamientos de inoculación del suelo, se han observado excelentes resultados en actividades de biocontrol, ya que producen un arsenal antimicrobiano, como el cianuro de hidrógeno (HCN), fenazinas, pirrolnitrina, sideróforos, lipopéptidos cíclicos, y 2,4-diacetilfloroglucinol (DAPG), así como enzimas hidrolíticas como las proteasas, quitinasas, celulasas, etc. Esta poderosa diversidad de compuestos antimicrobianos hace que dichas bacterias se puedan considerar con alta capacidad para inducir resistencia sistémica [18]. Por otro lado, la bacteria *Escherichia coli*, que es ampliamente encontrada en el suelo y sistema acuático se ha utilizado para estudiar la formación de biopelículas [19].

Las biopelículas o “biofilms” por su parte, es un ecosistema microbiano organizado, formado por la acumulación de material orgánico e inorgánico, Este tipo de conformación microbiana ocurre cuando las células planctónicas se adhieren a una superficie o sustrato, formando, caracterizado por la excreción de una matriz extracelular adhesiva protectora. Un ejemplo cotidiano de biopelículas es la capa dental, donde cada día nos esforzamos por combatir la película de bacterias que recubre la superficie de los dientes para evitar un desarrollo excesivo de microorganismos que pueden provocar un deterioro del esmalte dental. Hoy en día, bajo las condiciones adecuadas todos los microorganismos son capaces de formar biofilms [20–23].

En este trabajo, para el estudio de la proliferación bacteriana en películas de materiales termoplásticos se utilizaron la cepa no patógena de *Pseudomona fluorecens* (B52) obtenida a partir de leche cruda y la bacteria *Escherichia coli* (DH5α™).

Estos estudios se realizaron en colaboración con el Departamento de Nutrición, Bromatología y Tecnología de los Alimentos de la Universidad Complutense de Madrid y el Departamento de Bioingeniería e Ingeniería Aeroespacial de la Universidad Carlos III de Madrid, respectivamente. En los capítulos 4 y 5 de esta investigación se detalla el protocolo experimental de microbiología realizado.

3.1.6.- Otras técnicas

3.1.6.1.- Ensayos mecánicos

Se estudiaron las propiedades mecánicas de las muestras con el fin de correlacionarlas con las posibles modificaciones estructurales inducidas por la presencia de las nanopartículas dispersadas en la matriz polimérica de PLA. Para ello se realizaron ensayos de tracción con una máquina de tracción tipo Autograph Universal Testing Machine de la serie Shimadzu Trapezium 2 a una velocidad de $2 \text{ mm} \cdot \text{min}^{-1}$ a temperatura ambiente de acuerdo a la norma ISO 3167:2002. Para ensayar las probetas se utilizó una célula de carga de 1 kN. Las dimensiones de las probetas de las películas estudiadas se muestran en la Figura 3.2, siendo el espesor de las películas unos $\sim 0,2 \text{ mm}$. Se midió el desplazamiento entre las mordazas de las probetas a temperatura ambiente en función de la fuerza aplicada. A partir de los datos de fuerza y desplazamiento obtenidos, se representaron las gráficas de tensión-deformación (σ - ϵ) ingenieriles.

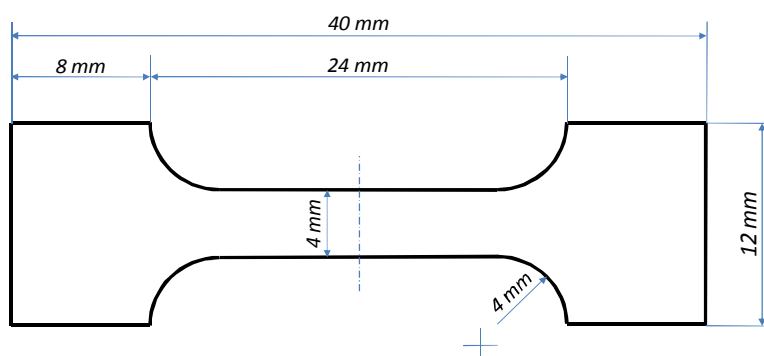


Figura 3.2.- Dimensiones utilizadas en la preparación de las probetas de tracción.

Las propiedades de tracción estudiadas fueron el módulo de Young (E), la resistencia a la tracción (σ_{\max}), el límite elástico (σ_{yield}), la resistencia a rotura (σ_r) y la ductilidad en términos de la deformación máxima en % al romper el material (ϵ_{\max}) [24], que se determinaron a partir de la norma estándar ISO 527-1:1993 corregida 1:1994. Se ensayaron cinco probetas para cada uno de los materiales estudiados con el fin de

obtener los valores medios de las magnitudes deseadas y las desviaciones estándar correspondientes.

3.1.6.2.- Molienda de bolas de alta energía, HEBM

Recientemente se ha probado que la molienda de bolas de alta energía o por sus siglas en inglés high energy ball milling, HEBM, en materiales poliméricos puede ayudar a obtener materiales con nuevas características que difícilmente se podrían obtener con otros métodos de procesamiento convencionales. Aunque la acción mecánica puede tener efectos aparentemente adversos en los polímeros sólidos como por ejemplo la escisión de cadenas y, en algunas ocasiones, oxidación de la muestra, se ha demostrado que en muchas ocasiones los resultados pueden ser muy útiles. Por ejemplo, la HEBM se ha empleado recientemente para preparar materiales nanocompuestos con nanopartículas uniformemente dispersas en una matriz polimérica además de obtener propiedades mecánicas mejoradas [25–27].

La molienda de bolas de alta energía se realizó bajo dos condiciones de temperatura diferentes: a temperatura ambiente y en condiciones criogénicas. Para la molienda a temperatura ambiente se utilizó un molino Fritsch Pulverisette 6 con 11 bolas de acero de 15 mm de diámetro. A partir de las directrices de molienda recomendadas por el fabricante se establecieron las siguientes condiciones: a) 350 rpm y b) 12 ciclos de 10 min de molienda activa más 3 min de descanso entre ciclos. Para completar 1 h de molienda a temperatura ambiente se realizan 6 ciclos, seguidamente se esperan 20 min antes de realizar los otros 6 ciclos que complementan las 2 h molienda a temperatura ambiente, es decir, el tiempo total de molienda activa es de 1 y 2 h.

Para la molienda en condiciones criogénicas, se utilizó un molino mezclador MM400 de la marca comercial RETSCH (Figura 3.3), con vasijas de acero inoxidable de 50 ml de volumen y una bola por vasija de 25 mm de diámetro.



Figura 3.3.- Molino mezclador MM400 de RETSCH empleado en la preparación de muestras por molienda criogénica.

La cantidad de material que se introdujo en cada vasija responde a las especificaciones del fabricante que indica que, para un volumen de 50 ml: 1/3 del volumen de la vasija debe ser aire, 1/3 del volumen debe estar ocupado por las bolas de acero y el 1/3 restante debe ser la muestra a moler. Las condiciones de molienda se fijaron en una frecuencia de 25 Hz durante 5 min. Cada ciclo de 5 min de la molienda activa, las muestras se sumergieron en nitrógeno líquido durante 15 min para asegurar condiciones criogénicas. El tiempo de molienda activo total fue de 1 h.

3.2.- Materiales

En este trabajo se utilizó una matriz polimérica biodegradable y como relleno dos tipos de nanopartículas cerámicas como se detalla a continuación.

3.2.1.- Ácido Poliláctico, PLA

Para preparar los materiales compuestos se eligió como matriz polimérica el ácido poliláctico (PLA), suministrado por la empresa Resinex Spain, S.L., y fabricado por la empresa Nature Works LLC bajo el código de producto PLA Polymer 7032D. En el Anexo 1 se adjunta la ficha técnica con algunas propiedades del PLA utilizado en este trabajo.

La Figura 3.4 muestra el difractograma de rayos X del PLA de partida. Se puede observar que el PLA de partida tiene un pico principal cristalino a $2\theta = 16,8^\circ$ correspondiente a los planos (200) y (110) correspondientes a la estructura ortorrómbica [28], y unos picos de menor intensidad que aparece en $2\theta = 19,1^\circ$ y $22,4^\circ$ asignados a la reflexión de los planos (203) y (015) respectivamente [29,30]. Por otro lado a partir del difractograma y la ecuación 3.1 se determinó también que el PLA de partida tiene una cristalinidad de 24,3 % [31].

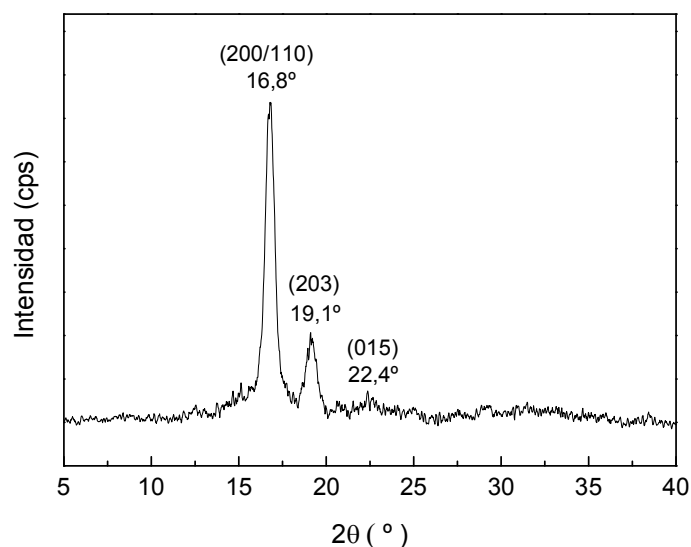


Figura 3.4.- Difractograma de Rayos X del PLA de partida.

En la Figura 3.5 (a) y (b) se puede observar el espectro infrarrojo del PLA de partida en dos regiones distintas del infrarrojo medio (MIR). Los espectros presentan las bandas típicas del polímero en estudio. Cada una de las bandas que aparecen en los espectros ha sido asignada a uno de los grupos funcionales que componen cada molécula como se muestra en la Tabla 3.1. No se observaron señales no asignables que puedan denotar la presencia de impurezas ajenas al polímero. En la Figura 3.5 (a) se pueden observar 5 bandas asignadas a las vibraciones de tensiones C-H en CH_3 y CH_2 del PLA, situadas a 2997, 2945, 2920, 2881 y 2850 cm^{-1} . Las dos primeras bandas se asignaron a las tensiones antisimétricas y simétricas de los grupos CH_3 , respectivamente [28,31,32]. Las bandas centradas a 2920 y 2850 cm^{-1} se asignaron a las tensiones antisimétricas y simétricas de los grupos CH_2 [32]. En la Figura 3.5 (b), las bandas de absorción

observadas entre 2000 a 600 cm^{-1} se asignaron a las vibraciones de deformación CH_3 y a las tensión de los grupos $\text{C}=\text{O}$.

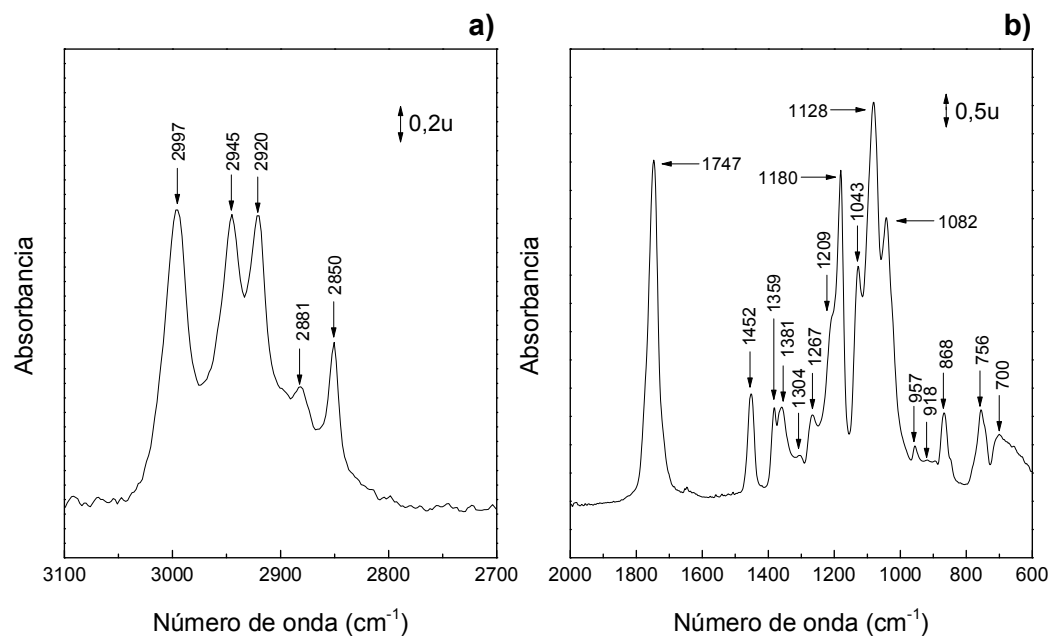


Figura 3.5.- Detalles del espectro infrarrojo medio del PLA de partida en dos regiones distintas.

Tabla 3.1.- Asignación de bandas del PLA de partida en la región del MIR (v1 se refiere a la vibración, ν a la vibración de tensión, δ a la vibración de flexión, r balanceo) [28,32–34].

Posición de las bandas (cm^{-1})	Asignación	Posición de las bandas (cm^{-1})	Asignación
2997	v1 ($\nu_{\text{as}}\text{CH}_3$)	1209	v12 ($\nu_{\text{as}}\text{COC} + r_{\text{as}}\text{CH}_3$)
2945	v2 ($\nu_{\text{s}}\text{CH}_3$)	1180	v13 ($\nu_{\text{as}}\text{COC} + r_{\text{as}}\text{CH}_3$)
2920	v3 ($\nu_{\text{as}}\text{CH}_2$)	1128	v14 ($r_{\text{as}}\text{CH}_3$)
2881	v4 (νCH_3)	1082	v15 ($\nu_{\text{s}}\text{COC}$)
2850	v5 ($\nu_{\text{s}}\text{CH}_2$)	1043	v16 ($\nu\text{C}-\text{CH}_3$)
1747	v6 ($\nu\text{C}=\text{O}$)	957	v17 ($\text{CH}_3 + \nu\text{CC}$)
1452	v7 ($\delta_{\text{as}}\text{CH}_3$)	918	v18 ($r\text{CH}_3 + \nu\text{CC}$)
1381	v8 ($\delta_{\text{s}}\text{CH}_3$)	868	v19 ($\nu\text{C}-\text{COO}$)
1359	v9 ($\delta_{\text{as}}\text{CH}_3$)	756	v20 ($\delta\text{C}=\text{O}$)
1304	v10 (δCH)	700	v21 ($\gamma\text{C}=\text{O}$)
1267	v11 ($\nu_{\text{as}}\text{COC} + \delta\text{CH}$)		

La Tabla 3.2 se asignan las bandas observadas en la Figura 3.6 del espectro del infrarrojo cercano (FT-NIR) en la región entre 5000 a 4000 cm^{-1} para el PLA de partida.

Tabla 3.2.- Asignación de bandas de combinación para el PLA de partida en el NIR.

Modo de combinación	Posición calculada (cm^{-1})	Posición observada (cm^{-1})	Asignación
$\nu_1 + \nu_6$	4744	4770	$\nu_{\text{as}}\text{CH}_3 + \nu\text{C}=\text{O}$
$\nu_1 + \nu_6$	4744	4725	$\nu_{\text{as}}\text{CH}_3 + \nu\text{C}=\text{O}$
$\nu_1 + \nu_7$	4449	4438	$\nu_{\text{as}}\text{CH}_3 + \delta_{\text{as}}\text{CH}_3$
$\nu_3 + \nu_7$	4372	4372	$\nu_{\text{as}}\text{CH}_2 + \delta_{\text{as}}\text{CH}_3$
$\nu_1 + \nu_8$	4378		$\nu_{\text{as}}\text{CH}_3 + \delta_{\text{s}}\text{CH}_3$
$\nu_2 + \nu_9$	4304	4307	$\nu_{\text{s}}\text{CH}_3 + \delta_{\text{as}}\text{CH}_3$
$\nu_5 + \nu_7$	4302		$\nu_{\text{s}}\text{CH}_2 + \delta_{\text{as}}\text{CH}_3$
$\nu_1 + \nu_{10}$	4301		$\nu_{\text{as}}\text{CH}_3 + \delta\text{CH}$
$\nu_3 + \nu_8$	4301		$\nu_{\text{as}}\text{CH}_2 + \delta_{\text{s}}\text{CH}_3$
$\nu_2 + \nu_{10}$	4249	4255	$\nu_{\text{s}}\text{CH}_3 + \delta\text{CH}$
$\nu_4 + \nu_8$	4262		$\nu\text{CH}_3 + \delta_{\text{s}}\text{CH}_3$
$\nu_2 + \nu_{11}$	4212	4217	$\nu_{\text{s}}\text{CH}_3 + (\nu_{\text{as}}\text{COC} + \delta\text{CH})$
$\nu_3 + \nu_{10}$	4224		$\nu_{\text{as}}\text{CH}_2 + \delta\text{CH}$
$\nu_5 + \nu_9$	4209		$\nu_{\text{s}}\text{CH}_2 + \delta_{\text{as}}\text{CH}_3$
$\nu_1 + \nu_{13}$	4177	4175	$\nu_{\text{as}}\text{CH}_3 + (\nu_{\text{as}}\text{COC} + r_{\text{as}}\text{CH}_3)$
$\nu_4 + \nu_{10}$	4185		$\nu\text{CH}_3 + \delta\text{CH}$
$\nu_3 + \nu_{12}$	4129	4135	$\nu_{\text{as}}\text{CH}_2 + (\nu_{\text{as}}\text{COC} + r_{\text{as}}\text{CH}_3)$
$\nu_1 + \nu_{14}$	4125		$\nu_{\text{as}}\text{CH}_3 + r_{\text{as}}\text{CH}_3$
$\nu_2 + \nu_{13}$	4125		$\nu_{\text{s}}\text{CH}_3 + (\nu_{\text{as}}\text{COC} + r_{\text{as}}\text{CH}_3)$
$\nu_4 + \nu_{12}$	4090	4086	$\nu\text{CH}_3 + (\nu_{\text{as}}\text{COC} + r_{\text{as}}\text{CH}_3)$
$\nu_1 + \nu_{15}$	4079		$\nu_{\text{as}}\text{CH}_3 + \nu_{\text{s}}\text{COC}$
$\nu_3 + \nu_{14}$	4048	4051	$\nu_{\text{as}}\text{CH}_2 + r_{\text{as}}\text{CH}_3$
$\nu_5 + \nu_{12}$	4059		$\nu_{\text{s}}\text{CH}_2 + (\nu_{\text{as}}\text{COC} + r_{\text{as}}\text{CH}_3)$

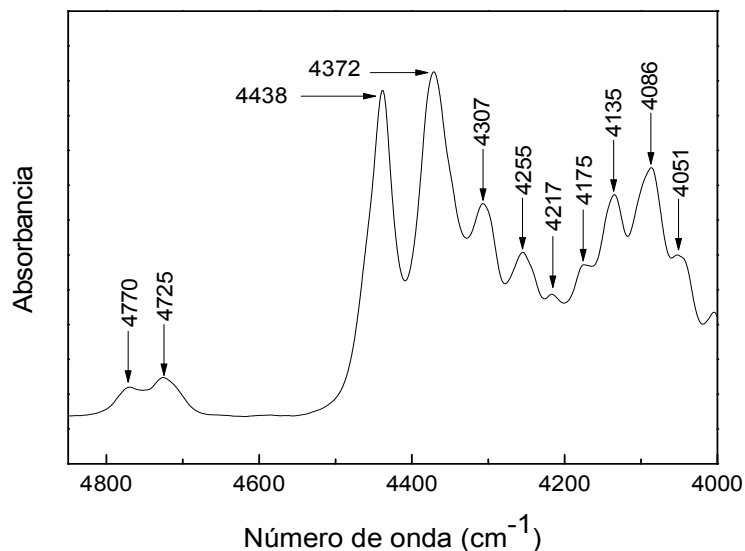


Figura 3.6.- Detalles del espectro infrarrojo cercano del PLA de partida.

En la Figura 3.7 se ilustra la traza de DSC obtenida para el PLA de partida. Se observa un salto en la capacidad calorífica a aproximadamente la temperatura de transición vítrea 63,2 °C según indican los datos bibliográficos que corresponde con una relajación estructural, con los consiguientes cambios en las propiedades físicas, tales como la entalpía y el volumen específico [35]. También se puede apreciar un pico exotérmico a 120,4 °C, correspondiente a un fenómeno de cristalización y un pico endotérmico en torno a los 165,3 °C asociado a la fusión del material. Estos resultados están de acuerdo con los obtenidos en otros trabajos [15,36].

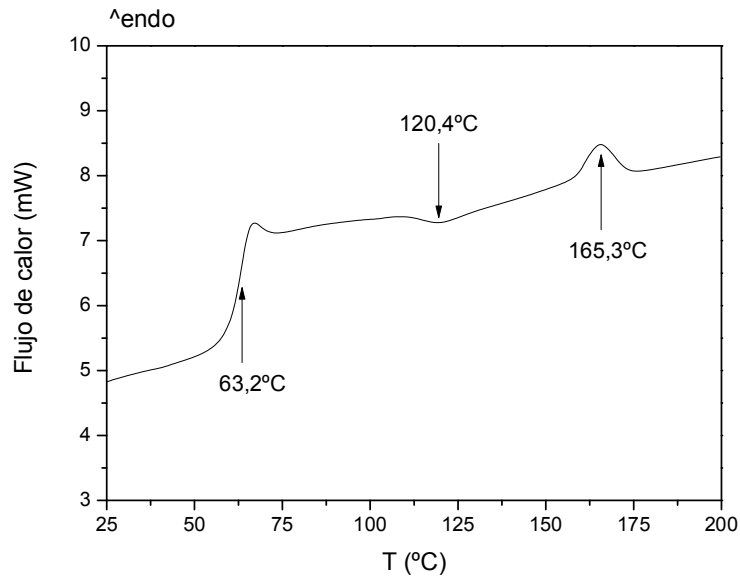


Figura 3.7.- Curva de DSC del PLA de partida correspondiente al segundo barrido de calentamiento.

La Figura 3.8 ilustra los resultados de termogravimetría (TGA), curvas de análisis térmico diferencial (ATD) y termograma diferencial (DTGA, differential thermogravimetric analysis) para el PLA puro medidos a 10 °C/min.

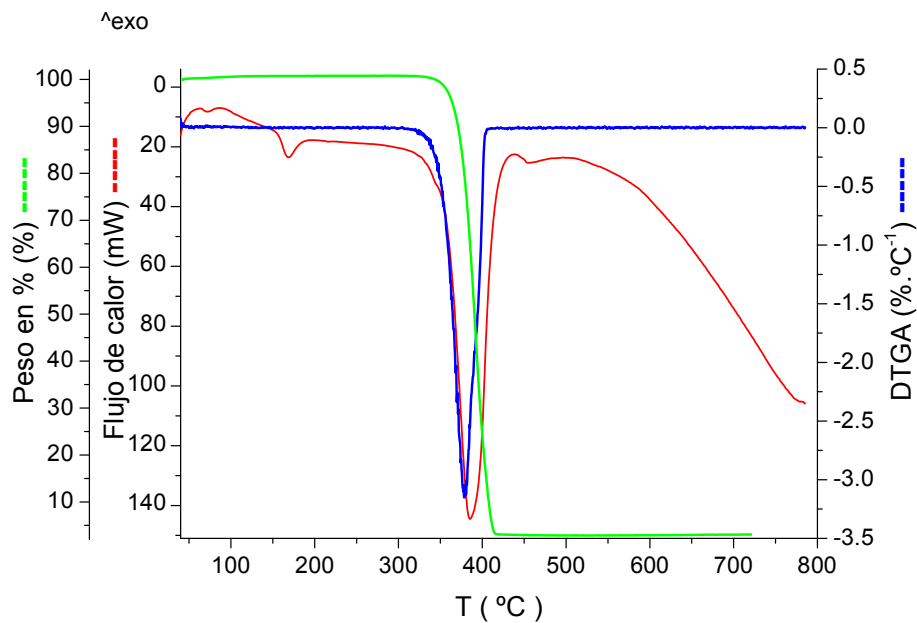


Figura 3.8.- Termograma (TGA, en verde) y curvas de análisis térmico diferencial (ATD, en rojo) mostrando el flujo de calor suministrado en función de la temperatura y la derivada del termograma (DTGA, en azul) para el PLA puro entre 30-800 °C a 10 °C/min.

En la curva de ATD se observan dos picos endotérmicos uno asociado a la temperatura de la degradación térmica del PLA, $T_{deg} = 384,8\text{ }^{\circ}\text{C}$ y otro asociado a la fusión del PLA, $T_m = 173,1\text{ }^{\circ}\text{C}$ que se debe a la fusión del PLA. Por otro lado se puede observar aunque no con mucha claridad un cambio en torno a $65\text{ }^{\circ}\text{C}$ que se puede asociar a la temperatura de transición vítrea del PLA. El hecho de que no se observe con claridad la temperatura de transición vítrea podría atribuirse a la alta fracción cristalina del polímero y a que esta técnica es menos sensible que el DSC. En la curva termogravimétrica se puede observar que la velocidad máxima de pérdida de masa (punto de inflexión) ocurre a $374,9\text{ }^{\circ}\text{C}$ y se desplaza $9,9\text{ }^{\circ}\text{C}$ respecto del pico endotérmico asociado al punto de máxima velocidad de degradación del PLA.

3.2.2.- Caolín

Para preparar los materiales nanocompuestos se empleó como relleno caolín altamente cristalino suministrado por Sigma Aldrich (K7375). De acuerdo a la literatura, la composición química del caolín es: 46,5 % de SiO_2 ; 39,5 % Al_2O_3 y 13,9 % H_2O [37].

En la Figura 3.9 se muestra un difractograma de rayos X del caolín de partida donde se pueden apreciar dos picos de difracción intensa, correspondientes a la primera y segunda reflexión basal del caolín, K_1 y K_2 , respectivamente.

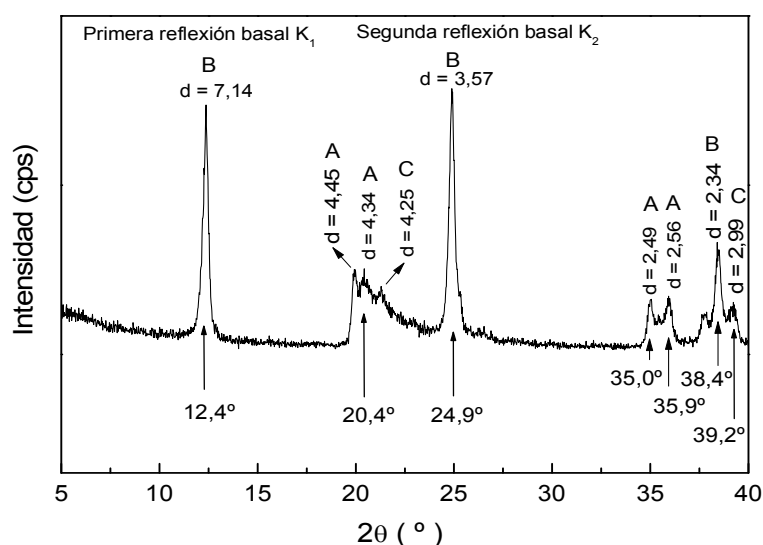


Figura 3.9.- Difractograma de rayos X del caolín de partida.

El caolín de partida muestra un pico máximo de difracción en $2\theta = 12,4^\circ$ correspondiente a un espaciado basal de 0,72 nm, de acuerdo con la Ley de Bragg ($n\lambda = 2d\sin\theta$) asignado al plano cristalino (001) y otro pico de difracción a $2\theta = 24,9^\circ$ correspondiente a un espaciado de 0,36 nm, asignado al plano (002). Ambos picos son intensos y estrechos, lo que refleja una arcilla altamente cristalina abundante en caolinita en el caolín utilizado en este trabajo. Los picos (A) se refieren a la presencia de $H_2KAl_3(SiO_4)_3$ (moscovita), los picos (B) al $Al_2Si_2O_5(OH)_4$ (caolinita) y los picos (C) al SiO_2 (cuarzo) [38]. Además, también se observan otros picos menos intensos correspondientes a otras distancias interplanares del caolín [39].

En la Figura 3.10 se ilustra un espectro ATR-FTIR de la muestra de caolín de partida en dos regiones distintas del infrarrojo medio y en la Tabla 3.3 se detalla la asignación de las bandas en el infrarrojo medio para el caolín de partida usado en este estudio.

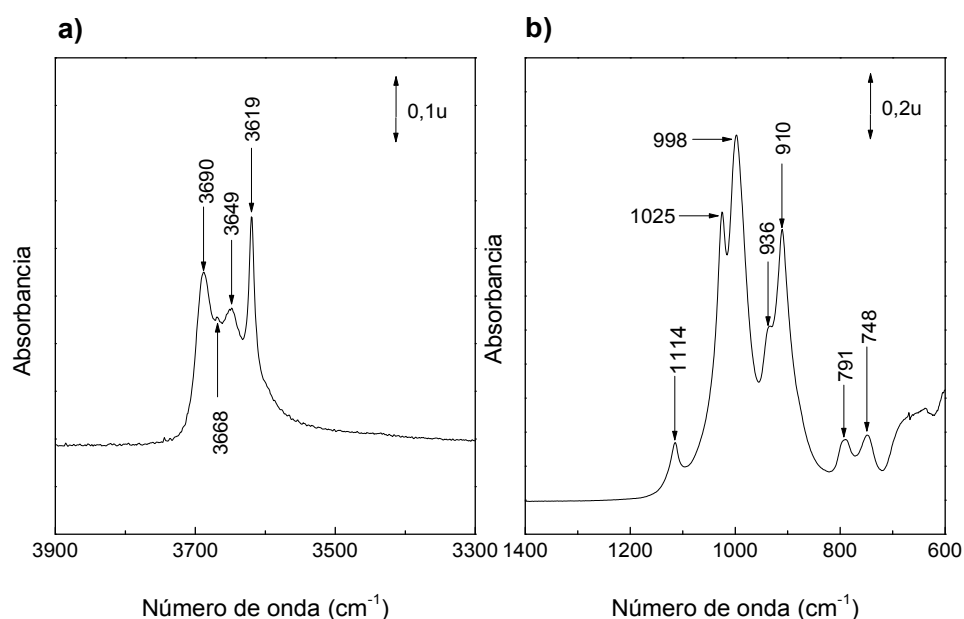


Figura 3.10.- (a) y (b) Espectro del infrarrojo medio del caolín de partida en dos regiones distintas.

Tabla 3.3.- Asignación de bandas en la región del FT-MIR del caolín [3,40–43].

Posición de las bandas (cm ⁻¹)	Asignación
3687	Tensión OH de los grupos hidroxilo de la superficie interna
3668	Tensión OH de los grupos hidroxilo de la superficie interna
3649	Tensión OH de los grupos hidroxilo de la superficie interna, tensión correspondiente a las moléculas de agua absorbidas
3619	Tensión OH de los grupos hidroxilo internos
1114	Tensión Si-O (modo longitudinal), deformación en el plano Si-O-Si
1025	Tensión Si-O en el plano
998	Tensión Si-O en el plano
936	Flexión de los grupos hidroxilo de la superficie interna (grupos AlAlOH)
913	Flexión de los grupos hidroxilo internos(grupos AlAlOH)
791	Si-O, tensión Si-O del cuarzo, flexiones angulares Al-O-Si, vibraciones traslacionales de grupos hidroxilo
748	Si-O, perpendicular, flexiones angulares Si-O-Si, tensión en el plano Al-O-Si

En la Figura 3.10 (a) se observan claramente cuatro bandas en 3690, 3668, 3649 y 3619 cm⁻¹ asignadas a las tensiones de los OH estructurales del caolín. Estas cuatro bandas se asignan a la vibración de tensión O-H donde; (i) la banda a 3690 cm⁻¹ se puede asociar a los grupos hidroxilo libres -OH o a los hidroxilo externos de la estructura del caolín; (ii) la banda a 3668 cm⁻¹ es generalmente indicativa de enlaces de hidrógeno entre capas en la que el principal componente del enlace es perpendicular al plano basal; (iii) la banda a 3649 cm⁻¹ señala grupos OH en la que el hidrógeno extremo apunta hacia huecos dentro de sitios octaédricos, resultando en un enlace orientado donde la componente principal es paralela al plano basal y (iv) la banda a 3619 cm⁻¹ indica el enlace de hidrógenos entrecapas que involucran a dos grupos hidroxilo basales de una capa y a dos oxígenos de un tetraedro de SiO₄ [3,44].

Algo similar se puede decir cuando se considera la región del infrarrojo entre 1200 a 700 cm^{-1} para la figura 3.10 (b) donde la principal banda asignada corresponde a la vibración de flexión OH, de la superficie interna de grupos OH localizada a 913 cm^{-1} , la banda cerca de 936 cm^{-1} se asigna a los grupos OH superficiales y la vibración de tensión Si-O a la banda 1114 cm^{-1} , respectivamente. La banda 1025 cm^{-1} también puede tener una contribución de moscovita y el pico a 791 cm^{-1} está probablemente asociado con el cuarzo como impureza del caolín de acuerdo a los resultados de difracción de rayos X [3,45,46].

La Figura 3.11 muestra micrografías del caolín de partida obtenidas por SEM con el detector de electrones secundarios a 6500 y 20000 aumentos. En la Figura 3.10 (a) se observan aglomerados de partículas de caolín de distintos tamaños [47]. En la Figura 3.10 (b), obtenida a mayores aumentos (20000x) se puede apreciar con más detalle la estructura laminar característica de las partículas de caolín.

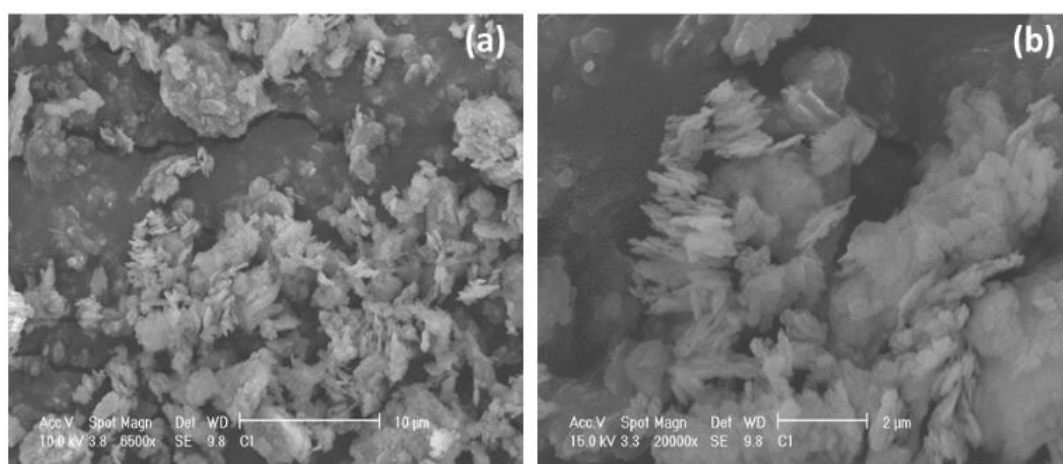


Figura 3.11.- Micrografías de SEM del caolín de partida obtenidas a: (a) 6500, (b) 20000 aumentos.

En la siguiente Figura 3.12 se muestra el análisis termogravimétrico del caolín de partida en la que se presenta una curva típica de pérdida de masa en función de la temperatura (TGA) junto con la curva derivada (DTGA) en un intervalo de temperatura comprendido entre 30-1000 °C.

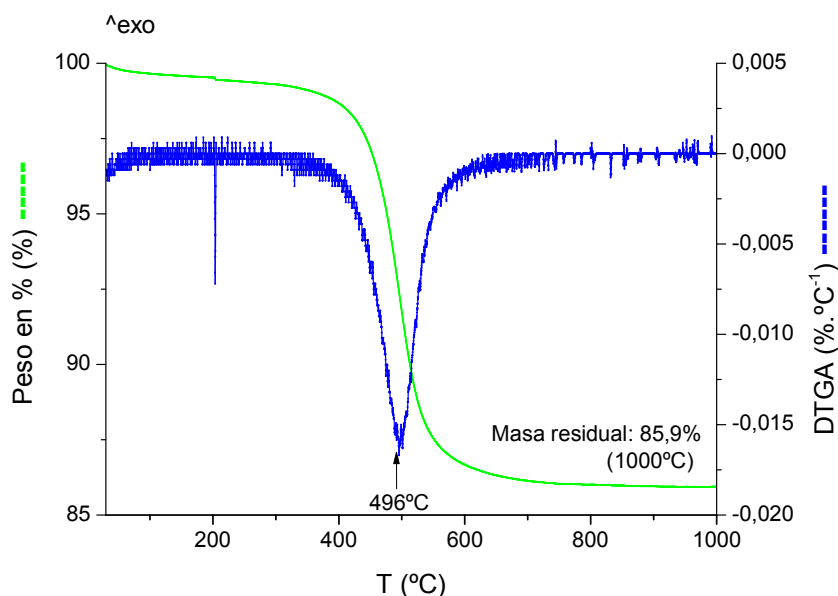


Figure 3.12.- Curva típica de pérdida de masa en función de la temperatura (TGA) junto con la curva derivada (DTGA) en un intervalo de temperatura comprendido entre 30-1000 °C a 10 °C/min para el caolín de partida.

La descomposición térmica del caolín se da alrededor de 450 °C [48]. Por otra parte, se observa un pico endotérmico en la curva de la derivada (DTGA), a un mínimo de 496 °C y que corresponde a la deshidratación de la muestra, donde la pérdida de agua estructural conduce a la formación de un producto metaestable relacionado con la caolinita. También se observa un pico exotérmico alrededor de 200 °C que puede estar relacionado con una transición estructural [49]. La región de temperatura entre 925 a 1050 °C corresponde a la eliminación parcial de óxido de silicio, que se mantiene en estado amorfo y que se corresponde con la formación de otro producto intermedio metaestable con estructura de espinela [50]. La degradación completa de la muestra de caolín se da alrededor de 1200 °C con la formación de cristobalita. Sin embargo, este efecto exotérmico no se detecta en la curva DTGA de la Figura 3.12, debido a que el rango de temperatura de medición seleccionado fue de 25 a 1000 °C. La degradación del caolín también se puede detectar en la curva de pérdida de masa, donde la masa residual total fue de 85,9% [50]. Esta pérdida podría asignarse a la pérdida de peso de grupos hidroxilo o a los gases absorbidos del caolín [51]. Para el mineral caolinita el mayor fenómeno de deshidroxilación se limita a temperaturas comprendidas entre 450

y 700 °C. A 700 °C la pérdida de peso asociada con la formación de metacaolín es independiente de la velocidad de calentamiento. Por lo tanto, la estequiometría del metacaolín debería ser igual para todas las velocidades de calentamiento [52].

3.2.3.- Dióxido de titanio, TiO_2

Como segundo relleno de la matriz polimérica (PLA) se utilizaron dos tamaños de partículas de dióxido de titanio diferentes 21 nm y <100 nm, suministradas por Sigma Aldrich (pureza 99,9 % y peso molecular 84,93 g/mol). La Figura 3.13 muestra el difractograma de rayos X del TiO_2 de los dos tamaños de partículas, 21nm (Figura 3.13 (a)) y 100 nm (Figura 3.13 (b)).

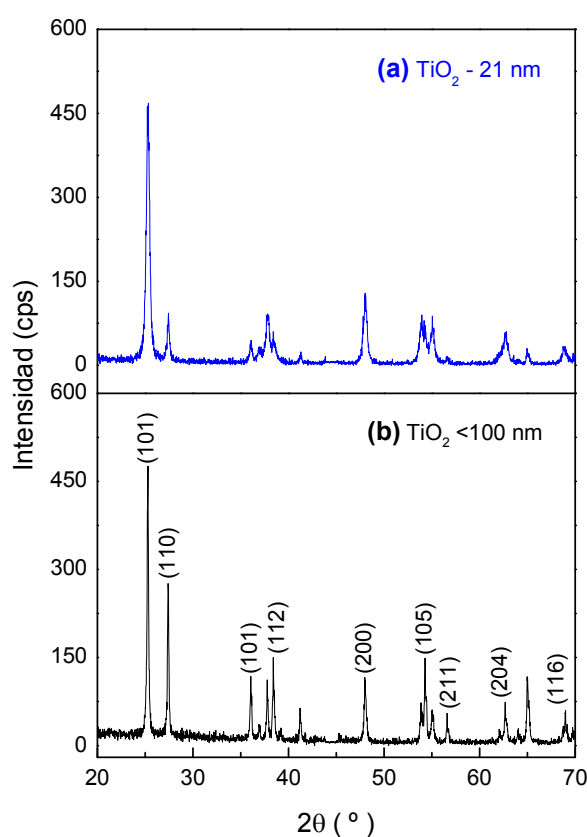


Figura 3.13.- Difractograma de rayos X de (a) $\text{TiO}_2 \sim 21$ nm y (b) $\text{TiO}_2 < 100$ nm.

Se puede observar que la intensidad de los picos aumenta con el aumento del tamaño de partículas. Estos resultados sugieren que los polvos de nanopartículas de TiO_2 están conformados por un material policristalino irregular y una parte amorfa de baja intensidad; sin embargo, el efecto de los materiales amorfos sobre un ligero ensanchamiento de los picos de los espectros de rayos X no es considerable [53]. El pico correspondiente a la familia de planos con índices (101) es más ancho en el caso de las partículas de 21 nm. Lo mismo se observa en el pico asignado al plano (200) y también se puede ver que los picos cercanos al plano (112) se resuelven peor cuando el tamaño de partículas es más pequeño.

Las fases rutilo y anatasa tienen diferentes picos de difracción debido a la diferencia de las fases cristalinas. La asignación de estos picos se resume en la Tabla 3.4 [53–56]. Los resultados de ambas fases (rutilo y anatasa) para los dos tamaños de partículas de TiO_2 estaban de acuerdo con la base de datos de referencia JCPDS (no.:89-4920 and 89-4921), (véase los anexos 2 y 3).

Por otra parte, mediante la ecuación de Scherrer se estimó el tamaño de los cristalitas de las nanopartículas de TiO_2 .

$$\beta = \frac{k\lambda}{\omega \cos \theta}$$

Ecuación 3.3

donde β es el tamaño promedio de la partícula; k es la constante próximo a 1,0; λ es la longitud de onda de la radiación utilizada; θ es la posición del pico de difracción (reflexión de Bragg) y ω es el ancho a la altura media del pico de difracción [57–59].

Según la ecuación de Scherrer, para el TiO_2 con tamaño de partículas de 21 nm los tamaños de los cristales se estimaron en media a 25,0 nm y para el TiO_2 con tamaño de partículas menores a 100 nm se estimaron en media a 57 nm.

Tabla 3.4.- Asignación de picos de difracción de rayos X de TiO_2 .

Fase de TiO_2	2θ (°)	Índices de Miller (h k l)
Rutilo	27,4	1 1 0
	36,1	1 0 1
	41,2	1 1 1
	54,3	2 1 1
	56,6	2 2 0
	64,0	3 1 0
	65,0	2 2 1
Anatasa	25,3	1 0 1
	36,9	1 1 2
	37,8	0 0 4
	38,4	1 1 2
	48,0	2 0 0
	53,9	1 0 5
	55,0	2 1 1
	62,7	2 1 5/2 0 4
	69,0	1 1 6

3.2.4.- Disolventes

Como disolvente se utilizó diclorometano, CH_2Cl_2 , 99,9% de pureza y un peso molecular de 84,93 g/mol suministrado por Sigma Aldrich.

3.2.5.- Estudios microbiológicos

Los estudios sobre la proliferación de bacterias se realizaron en distintos sistemas poliméricos:

- a) Los reactivos utilizados en los primeros estudios microbiológicos son de Sigma Aldrich. Se empleó el caldo de triptona y soja (TSB) para revivir las cepas. El agua de peptona junto con el TSB y el agar de triptona y soja (TSA) se emplearon para preparar todos los medios de cultivos. El TSB, TSA y agua de peptona se emplearon para la preparación de los medios de crecimiento y pruebas microbianas. Los análisis microbiológicos se realizaron utilizando la bacteria no patógena, *Pseudomonas fluorescens* (B52), aislada a partir de leche cruda según el método de Richardson y Te Whaitien [60]. La *P. fluorescens* es una bacteria que deteriora los alimentos formando biopelículas gruesas y que una vez formada sobre la superficie, sirve como capa de anclaje para los microorganismos patógenos.
- b) Para el segundo estudio los reactivos fueron suministrados por Scharlau. Se empleó caldo de Luria Bertani (LB) y Agar-Luria Bertani (Agar-LB) en estado semi-sólido como medios de cultivos de crecimiento bacteriano. El caldo de Luria Bertani es compuesto por peptona tripsica de caseína (triptona), extracto de levadura y cloruro de sodio (NaCl) y el Agar-Luria Bertani es compuesto de LB más agar-agar en polvo. Se utilizó la bacteria *Escherichia coli* (DH5 α TM) para el análisis microbiológico y fue suministrada por LifeTechnologies.

3.3.- Preparación de muestras

En este estudio se trabajarán los siguientes sistemas:

3.3.1.- Sistema polimérico A: PLA + Caolín

Se estudiará el efecto del procesado y la presencia del caolín en las propiedades del PLA. En concreto, se han seleccionado varias condiciones de procesado: molienda de bolas de alta energía a temperatura ambiente (T_{amb}), HEBM (1 h y 2 h) y en condiciones criogénicas (1 h), evaluando la eficiencia en la dispersión del material de relleno en el material final. Además de la caracterización morfológica por SEM y AFM, se realizó la caracterización estructural (ATR-FTIR y XRD) y térmica de los materiales (DSC y TGA),

comparando las diferencias observadas en función del procesado y la presencia del caolín. Por último, en los sistemas seleccionados se estudiará la proliferación de bacterias *Pseudomonas fluorescens* (B52) como ensayo de caracterización del comportamiento en servicio de los materiales.

3.3.2.- Sistema polimérico B: PLA + TiO₂

Se estudiará el efecto de la composición y la estructura de las nanopartículas en las propiedades finales de los materiales. Para ello se plantea realizar una caracterización similar a la anterior (Sistema A) y la preparación de los siguientes sistemas y composiciones:

Sistema B.1.- PLA + Nanopartículas de TiO₂ (tamaño de partículas <100 nm). Composiciones (0%; 1%; 5%, 10% y 20%) (porcentaje en peso de partículas en el total del material compuesto).

Sistema B.2.- PLA + Nanopartículas de TiO₂ (tamaño de partículas de 21 nm). Composiciones (0%; 1%; 5%, 10% y 20%) (porcentaje en peso de partículas en el total del material compuesto).

Se realizará un estudio de propiedades antimicrobianas de los materiales utilizados en este sistema polimérico.

REFERENCIAS

- [1] Areizaga J, Cortazar MM, Elorza JM, Iruin JJ. Polímeros. Madrid: Síntesis; 2002.
- [2] Daguano JKMF, Strecker K, Ziemath EC, Rogero SO, Fernandes MH V., Santos C. Effect of partial crystallization on the mechanical properties and cytotoxicity of bioactive glass from the $3\text{CaO} \cdot \text{P}_2\text{O}_5 \cdot \text{SiO}_2 \cdot \text{MgO}$ system. *J Mech Behav Biomed Mater* 2012;14:78–88. doi:10.1016/j.jmbbm.2012.04.024.
- [3] Castrillo Sánchez PD. Preparación, caracterización y análisis de materiales nanocompuestos basados en sistemas epoxi-caolín. Universidad Carlos III de Madrid, 2010.
- [4] Sawyer LC, Grubb DT, Meyers GF. Polymer microscopy: Third edition. New York: Springer; 2008. doi:10.1007/978-0-387-72628-1.
- [5] Paz-Abuín S, Lopez-Quintela A, Pazos Pellin M, Varela M, Prendes P. Autoacceleration and Inhibition: Free Volume. Epoxy-Amine Kinetics. *J Polym Sci Part A Polym Chem* 1998;36:1001–16.
- [6] DeBakker CJ, George GA, St John NA, Fredericks PM. The kinetics of the cure of an advanced epoxy resin by Fourier transform Raman and near-IR spectroscopy. *Spectrochim Acta Part A Mol Spectrosc* 1993;49:739–52. doi:10.1016/0584-8539(93)80098-U.
- [7] Cabanelas JC, Prolongo SG, Serrano B, Bravo J, Baselga J. Water absorption in polyaminosiloxane-epoxy thermosetting polymers. *J Mater Process Technol* 2003;143-144:311–5. doi:10.1016/S0924-0136(03)00480-1.
- [8] Musto P, Mascia L, Ragosta G, Scarinzi G, Villano P. The transport of water in a tetrafunctional epoxy resin by near-infrared Fourier transform spectroscopy. *Polymer (Guildf)* 2000;41:565–74. doi:10.1016/S0032-3861(99)00210-4.
- [9] Olmos Díaz D. Materiales compuestos epoxi-sílice: estudio de interfaces. Universidad Carlos III de Madrid, 2003.
- [10] Giron D. Applications of thermal analysis and coupled techniques in pharmaceutical industry. *J Therm Anal Calorim* 2002;68:335–57. doi:10.1023/A:1016015113795.
- [11] Ozawa T. Thermal analysis — review and prospect. *Thermochim Acta* 2000;355:35–42. doi:10.1016/S0040-6031(00)00435-4.

- [12] Sin LT, Rahmat AR, Rahman WAWA. Polylactic Acid. William Andrew; 2012.
- [13] Ke K, Wen R, Wang Y, Yang W, Xie BH, Yang MB. Crystallization behavior of poly (vinylidene fluoride)/multi-walled carbon nanotubes nanocomposites. *J Mater Sci* 2011;46:1542–50. doi:10.1007/s10853-010-4959-5.
- [14] Solarski S, Ferreira M, Devaux E. Characterization of the thermal properties of PLA fibers by modulated differential scanning calorimetry. *Polymer (Guildf)* 2005;46:11187–92. doi:10.1016/j.polymer.2005.10.027.
- [15] Carrasco F, Pagès P, Gámez-Pérez J, Santana OO, Maspoch ML. Processing of poly(lactic acid): Characterization of chemical structure, thermal stability and mechanical properties. *Polym Degrad Stab* 2010;95:116–25. doi:10.1016/j.polymdegradstab.2009.11.045.
- [16] Kang S-M, Radhakrishnan R, Lee I-J. *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* GR53, a potent biocontrol agent resists *Rhizoctonia* disease on Chinese cabbage through hormonal and antioxidants regulation. *World J Microbiol Biotechnol* 2015;31:1517–27. doi:10.1007/s11274-015-1896-0.
- [17] Huang X, Zhang N, Yong X, Yang X, Shen Q. Biocontrol of *Rhizoctonia solani* damping-off disease in cucumber with *Bacillus pumilus* SQR-N43. *Microbiol Res* 2012;167:135–43. doi:10.1016/j.micres.2011.06.002.
- [18] Hernández-león R, Rojas-solís D, Contreras-pérez M, Orozco-mosqueda MC, Macías-rodríguez LI, Reyes-de la Cruz H, et al. Characterization of the antifungal and plant growth-promoting effects of diffusible and volatile organic compounds produced by *Pseudomonas fluorescens* strains. *Biol Control* 2015;81:83–92. doi:10.1016/j.biocontrol.2014.11.011.
- [19] Jiang X, Wang X, Tong M, Kim H. Initial transport and retention behaviors of ZnO nanoparticles in quartz sand porous media coated with *Escherichia coli* biofilm. *Environ Pollut* 2013;174:38–49. doi:10.1016/j.envpol.2012.11.016.
- [20] Stoodley P, Hall-Stoodley L, Costerton B, DeMeo P, Shirtliff M, Gawalt E, et al. *Biofilms, Biomaterials, and Device-Related Infections*. Third Edit. Elsevier; 2013. doi:10.1016/B978-0-08-087780-8.00050-4.
- [21] Lasa I, Penadés JR. Bap: a family of surface proteins involved in biofilm formation.

- Res Microbiol 2006;157:99–107. doi:10.1016/j.resmic.2005.11.003.
- [22] Besemer K. Biodiversity, community structure and function of biofilms in stream ecosystems. Res Microbiol 2015;1–8. doi:10.1016/j.resmic.2015.05.006.
- [23] Nieto Pozo I, Olmos D, Orgaz B, Božanić DK, González-Benito J. Titania nanoparticles prevent development of *Pseudomonas fluorescens* biofilms on polystyrene surfaces. Mater Lett 2014;127:1–3. doi:10.1016/j.matlet.2014.04.073.
- [24] Salmi G. Producción , Procesado y Caracterización de Aleaciones de Ti de Grano Fino. Universidad Carlos III de Madrid, 2010.
- [25] González-Benito J, González-Gaitano G. Interfacial conformations and molecular structure of PMMA in PMMA/silica nanocomposites. Effect of high-energy ball milling. Macromolecules 2008;41:4777–85. doi:10.1021/ma800260k.
- [26] Castrillo PD, Olmos D, Amador DR, González-Benito J. Real dispersion of isolated fumed silica nanoparticles in highly filled PMMA prepared by high energy ball milling. J Colloid Interface Sci 2007;308:318–24. doi:10.1016/j.jcis.2007.01.022.
- [27] Serra-Gómez R, González-Gaitano G, González-Benito J. Composites Based on EVA and Barium Titanate submicrometric particles: preparation by high-energy ball milling and characterization. Polym Compos 2012;33:1549–56. doi:10.1002/pc.22291.
- [28] Zhang J, Duan Y, Sato H, Tsuji H, Noda I, Yan S, et al. Crystal modifications and thermal behavior of poly (L-lactic acid) revealed by infrared spectroscopy. Macromolecules 2005;38:8012–21. doi:10.1021/ma051232r.
- [29] Li H, Nie W, Deng C, Chen X, Ji X. Crystalline morphology of poly(l-lactic acid) thin films. Eur Polym J 2009;45:123–30. doi:10.1016/j.eurpolymj.2008.10.008.
- [30] Pan P, Kai W, Zhu B, Dong T, Inoue Y. Polymorphous crystallization and multiple melting behavior of poly(L-lactide): molecular weight dependence. Macromolecules 2007;40:6898–905. doi:10.1021/ma071258d.
- [31] Auras R, Harte B, Selke S. An overview of polylactides as packaging materials. Macromol Biosci 2004;4:835–64. doi:10.1002/mabi.200400043.
- [32] Krikorian V, Pochan DJ. Crystallization behavior of poly (L-lactic acid) nanocomposites: nucleation and growth probed by infrared spectroscopy.

- Macromolecules 2005;38:6520–7.
- [33] Kister G, Cassanas G, Vert M. Effects of morphology, conformation and configuration on the IR and Raman spectra of various poly(lactic acid)s. *Polymer (Guildf)* 1998;39:267–73. doi:10.1016/S0032-3861(97)00229-2.
 - [34] Li Y, Sun XS. Preparation and characterization of polymer-inorganic nanocomposites by in situ melt polycondensation of L-Lactic acid and surface-hydroxylated MgO. *Biomacromolecules* 2010;11:1847–55. doi:10.1021/bm100320q.
 - [35] Fukushima K, Tabuani D, Camino G. Nanocomposites of PLA and PCL based on montmorillonite and sepiolite. *Mater Sci Eng C* 2009;29:1433–41. doi:10.1016/j.msec.2008.11.005.
 - [36] Zhang C, Wang W, Huang Y, Pan Y, Jiang L, Dan Y, et al. Thermal, mechanical and rheological properties of polylactide toughened by expoxidized natural rubber. *Mater Des* 2013;45:198–205. doi:10.1016/j.matdes.2012.09.024.
 - [37] Bertolino LC, Malta Rossi A, Bernstein Scorzelli R, Torem ML. Influence of iron on kaolin whiteness: An electron paramagnetic resonance study. *Appl Clay Sci* 2010;49:170–5. doi:10.1016/j.clay.2010.04.022.
 - [38] Konsomboon S, Pipatmanomai S, Madhiyanon T, Tia S. Effect of kaolin addition on ash characteristics of palm empty fruit bunch (EFB) upon combustion. *Appl Energy* 2011;88:298–305. doi:10.1016/j.apenergy.2010.07.008.
 - [39] Melo JDD, de Carvalho Costa TC, de Medeiros AM, Paskocimas CA. Effects of thermal and chemical treatments on physical properties of kaolinite. *Ceram Int* 2010;36:33–8. doi:10.1016/j.ceramint.2009.06.017.
 - [40] Madejová J. FTIR techniques in clay mineral studies. *Vib Spectrosc* 2003;31:1–10. doi:10.1016/S0924-2031(02)00065-6.
 - [41] Tunney JJ, Detellier C. Aluminosilicate nanocomposite materials. Poly(ethylene glycol)-kaolinite intercalates. *Chem Mater* 1996;8:927–35. doi:10.1021/cm9505299.
 - [42] Deng Y, White GN, Dixon JB. Effect of structural stress on the intercalation rate of kaolinite. *J Colloid Interface Sci* 2002;250:379–93. doi:10.1006/jcis.2001.8208.
 - [43] Li Y, Zhang B, Pan X. Preparation and characterization of PMMA-kaolinite

- intercalation composites. *Compos Sci Technol* 2008;68:1954–61.
doi:10.1016/j.compscitech.2007.04.003.
- [44] Wolff RG. Structural aspects of kaolinite using infrared absorption. *Am Mineral* 1963;48:390–9.
- [45] Farmer VC. Differing effects of particle size and shape in the infrared and Raman spectra of kaolinite. *Clay Miner* 1998;33:601–4.
doi:10.1180/claymin.1998.033.4.07.
- [46] Matusik J, Kłapyta Z, Olejniczak Z. NMR and IR study of kaolinite intercalation compounds with benzylalkylammonium chlorides. *Appl Clay Sci* 2013;83-84:426–32. doi:10.1016/j.clay.2013.07.008.
- [47] Xu X, Lao X, Wu J, Zhang Y, Xu X, Li K. Microstructural evolution, phase transformation, and variations in physical properties of coal series kaolin powder compact during firing. *Appl Clay Sci* 2015;115:76–86.
doi:10.1016/j.clay.2015.07.031.
- [48] Frost RL, Mako E, Kristof J, Horvath E, Klopogge JT. Mechanochemical treatment of kaolinite. *J Colloid Interface Sci* 2001;239:458–66. doi:10.1006/jcis.2001.7591.
- [49] Vázquez Acosta F, Torres-Martínez LM, Garza-Tovar LL, Martínez-de la Cruz A, López González W. Mineralogical Characterization of Villa Reyes México Kaolin for Industrial Applications. *Mater Sci Forum* 2008;569:341–4.
doi:10.4028/www.scientific.net/MSF.569.341.
- [50] Dohnalová Z, Svoboda L, Šulcová P. Characterization of kaolin dispersion using acoustic and electroacoustic spectroscopy. *J Min Metall Sect B Metall* 2008;44:63–72. doi:10.2298/JMMB0801063D.
- [51] Zhao S, Qiu S, Zheng Y, Cheng L, Guo Y. Synthesis and characterization of kaolin with polystyrene via in-situ polymerization and their application on polypropylene. *Mater Des* 2011;32:957–63. doi:10.1016/j.matdes.2010.07.020.
- [52] Castelein O, Soulestin B, Bonnet JP, Blanchart P. The influence of heating rate on the thermal behaviour and mullite formation from a kaolin raw material. *Ceram Int* 2001;27:517–22. doi:10.1016/S0272-8842(00)00110-3.
- [53] Thamaphat K, Limsuwan P, Ngotawornchai B. Phase characterization of TiO₂ powder by XRD and TEM. *Kasetsart J (Nat Sci)* 2008;42:357–61.

- [54] Ennaoui A, Sankapal BR, Skryshevsky V, Lux-Steiner MC. TiO₂ and TiO₂-SiO₂ thin films and powders by one-step soft-solution method: synthesis and characterizations. *Sol Energy Mater Sol Cells* 2006;90:1533–41. doi:10.1016/j.solmat.2005.10.019.
- [55] Devi RR, Maji TK. Interfacial effect of surface modified TiO₂ and SiO₂ nanoparticles reinforcement in the properties of wood polymer clay nanocomposites. *J Taiwan Inst Chem Eng* 2013;44:505–14. doi:10.1016/j.jtice.2012.11.018.
- [56] Wang WW, Man CZ, Zhang CM, Jiang L, Dan Y, Nguyen TP. Stability of poly(L-lactide)/TiO₂ nanocomposite thin films under UV irradiation at 254 nm. *Polym Degrad Stab* 2013;98:885–93. doi:10.1016/j.polymdegradstab.2013.01.003.
- [57] Burton AW, Ong K, Rea T, Chan IY. On the estimation of average crystallite size of zeolites from the Scherrer equation: A critical evaluation of its application to zeolites with one-dimensional pore systems. *Microporous Mesoporous Mater* 2009;117:75–90. doi:10.1016/j.micromeso.2008.06.010.
- [58] Borchert H, Shevchenko E V., Robert A, Mekis I, Kornowski A, Grübel G, et al. Determination of nanocrystal sizes: A comparison of TEM, SAXS, and XRD studies of highly monodisperse CoPt₃ particles. *Langmuir* 2005;21:1931–6. doi:10.1021/la0477183.
- [59] Patterson AL. The Scherrer formula for X-ray particle size determination. *Phys Rev* 1939;56:978–82.
- [60] Richardson BC, Te Whaiti IE. Partial characterization of heat-stable extracellular proteases of some psychrotrophic bacteria from raw milk. *NZ J Dairy Sci Technol* 1978;13:172–6.

Capítulo 4

Sistema PLA/Caolín

4.1	Introducción	4-3
4.2	Parte experimental.....	4-4
4.2.1	Preparación de muestras.....	4-4
4.2.2	Métodos y técnicas instrumentales	4-9
4.2.2.1	Actividad microbiana	4-10
4.3	Resultados y discusión	4-11
4.3.1	Caracterización de materiales PLA/Caolín	4-11
4.3.2	Estudio de la respuesta de los materiales frente al desarrollo de biopelículas.....	4-35
4.4	Conclusiones parciales	4-37
	REFERENCIAS	4-39



4.1.- Introducción

En la actualidad, uno de los grandes retos en el campo de los materiales nanocompuestos es que exista una adecuada dispersión de nanopartículas de distintos tipos en el interior de materiales poliméricos pues, en muchos casos, esto es lo que determina que se puedan obtener nuevos materiales con propiedades únicas. Por esta razón, se han probado muchos métodos para conseguir una buena dispersión de nanopartículas en una matriz polimérica, como por ejemplo: i) modificación química superficial de las nanopartículas; ii) modificación química de la matriz polimérica generando grupos funcionales diversos y iii) polimerización “in-situ”, dispersando las nanopartículas en un monómero y después polimerizando la mezcla. En general, estos métodos se basan en el procesamiento de los materiales en estado fundido o en disolución lo que conlleva alto consumo energético y problemas medioambientales. Además, principalmente cuando las partículas tienen diámetros por debajo de los 50 nm, es difícil obtener mezclas con dispersiones uniformes si la cantidad de nanorelleno supera el 5% en peso o los polímeros que se utilizan tienen una viscosidad elevada en estado fundido [1].

Por estas razones, se han realizado muchas investigaciones con el fin de estudiar el proceso de dispersión de nanopartículas en matrices poliméricas. Por ejemplo, los métodos denominados “de estado sólido” como la molienda de bolas de alta energía (HEBM) parecen ser una buena alternativa no sólo debido a sus resultados en términos de dispersión de nanopartículas, sino también desde el punto de vista de sus ventajas económicas. La molienda de bolas de alta energía es una técnica no convencional utilizada a menudo para la síntesis y procesamiento de materiales inorgánicos. Por lo general, mediante la molienda se consigue realizar una transferencia de energía desde los útiles de molienda (generalmente unas bolas de un material muy duro) al material objeto de molienda, lo que significa que durante la molienda las partículas de los materiales a mezclar se rompen, se producen superficies bien definidas y se promueve la difusión atómica y una mezcla a fondo de los mismos. No obstante, como consecuencia de la acción prolongada de la molienda y cuando la transferencia de energía durante los

golpes es suficiente como para superar la energía de activación es posible también que ocurran algunas reacciones químicas [1,2]

Por este motivo, en este apartado se ha llevado a cabo un estudio de los cambios observados en los materiales debido a la molienda de bolas de alta energía y a la adición de silicatos laminares (en concreto caolín). Estos silicatos pueden ser precursores de reacciones de intercalación adicionales para obtener materiales compuestos de matriz polimérica, son muy abundantes en la naturaleza y además tienen bajo coste [3]

En este capítulo se llevó a cabo un estudio del efecto de las condiciones de procesado y la presencia de caolín en las propiedades de los materiales compuestos PLA/Caolín. Para ello se prepararon materiales compuestos PLA/Caolín a partir de HEBM y posterior prensado en caliente y se realizó una caracterización de los mismos mediante difracción de rayos x, espectroscopía infrarroja trabajando en el modo de reflectancia total atenuada (FTIR-ATR), microscopía electrónica de barrido, microscopía de fuerza atómica, calorimetría diferencial de barrido y análisis termogravimétrico. Además, con objeto de estudiar el comportamiento de estos materiales frente a la proliferación de bacterias se llevó a cabo un análisis del desarrollo de biofilms formados a partir de cultivos de la bacteria denominada *Pseudomonas Fluorescens* B52.

4.2.- Parte experimental

4.2.1.- Preparación de muestras

El PLA comercial se suministró en forma de granza con diámetros en torno a los 3,5 mm. No obstante, es preciso que esté en la forma más parecida posible a polvo para que sea más fácil de procesar y que al mezclarlo con las nanopartículas se facilite la dispersión. Para obtener este polvo, inicialmente se introdujo PLA comercial en forma de granza en un molino del tipo MF 10 Basic de IKA WERKE a una velocidad de 3500 rpm, a modo de proceso de pre-molienda, para así obtener partículas relativamente finas con un diámetro aproximado de 1 mm ($\varnothing \sim 1,0$ mm) al que a partir de este punto se denominará PLA de partida (Figura 4.1).



Figura 4.1.- Ácido poliláctico de partida (PLA).

Los materiales, tanto el PLA como las nanopartículas de caolín se guardaron en condiciones adecuadas para que no sufrieran ninguna alteración en su composición, protegidas de la luz y a temperatura ambiente.

Las muestras en forma de películas (“films”) se prepararon en dos pasos:

- i. Molienda de bolas de alta energía (HEBM) de PLA con y sin caolín.
- ii. Prensado en caliente para obtener finalmente muestras en forma de películas.

La cantidad de relleno (nanopartículas de caolín) en los materiales nanocompuestos se fijó en un 20% en peso.

Para evaluar el efecto del tiempo de molienda y la temperatura se consideraron tres condiciones de procesado:

- i. HEBM a temperatura ambiente durante 1 h de molienda activa.
- ii. HEBM a temperatura ambiente durante 2 h de molienda activa.
- iii. HEBM en condiciones criogénicas durante 1 h de molienda activa.

Las muestras de partida tanto el PLA sin partículas como el caolín puro en ausencia de polímero se molieron por separado bajo las mismas condiciones de molienda que las utilizadas para las mezclas de nanocompuestos de PLA/Caolín con el fin de disponer de resultados para poder realizar las pertinentes comparaciones y poder ver el efecto de la presencia de caolín en el polímero.

Los materiales en forma de películas se obtuvieron mediante prensado en caliente. Los polvos (100 mg) procedentes del proceso de molienda se colocaron entre dos placas de vidrio (previamente recubiertas con Frekote NC-44® como desmoldeante). Seguidamente, se aplicó una presión de aproximadamente 14 N/cm² colocando un bloque de acero en la parte superior del sistema para posteriormente situarlo en el interior de un horno a 190 °C durante 1 h. Posteriormente el sistema se enfrió en el interior del horno hasta temperatura ambiente. Teniendo en cuenta las especificaciones del PLA utilizado (véase anexo 1), se fijó la temperatura de 190 °C por ser suficiente para fundir el polímero y no provocar su degradación. Las películas preparadas se almacenaron en un desecador para evitar la absorción de humedad.

En la Figura 4.2 se muestra un esquema del proceso seguido en la preparación de las muestras. Tras la primera etapa de molienda (etapa a, en Figura 4.2), se obtuvieron muestras en forma de polvo: PLA molido, PLA/Caolín molido y caolín molido, en las distintas condiciones de molienda. Después de la etapa de prensado en caliente (etapa b, Figura 4.2) se obtuvieron los sistemas PLA y PLA/Caolín en forma de films.

En la Figura 4.3 se muestran, a modo de ejemplo, las fotografías de algunas de las películas de los materiales preparados siguiendo el proceso descrito en la Figura 4.2 y en la Tabla 4.1 recoge los códigos utilizados para nombrar las muestras bajo estudio teniendo en cuenta las condiciones de preparación de la siguiente manera. Para nombrar los materiales se procedió de la siguiente manera: ácido poliláctico de partida (PLA); caolín de partida (K); la película (F); molienda durante 1 h (M1); molienda durante 2 h (M2); proceso de molienda criogénica durante 1 h (C1); temperatura ambiente (rt.); condiciones criogénicas (Cryo).

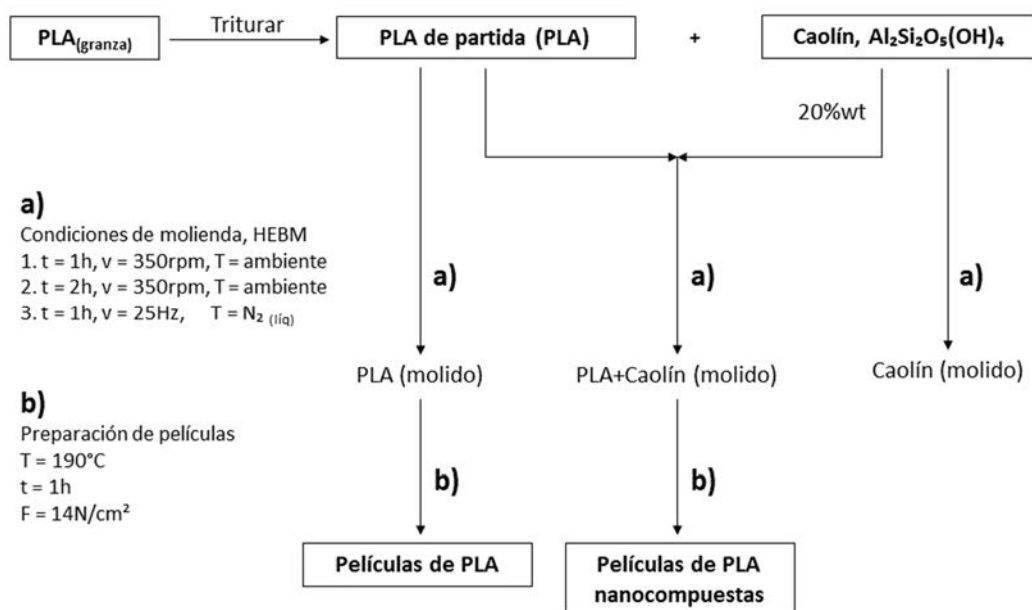


Figura 4.2.- Esquema de preparación de los materiales bajo estudio.

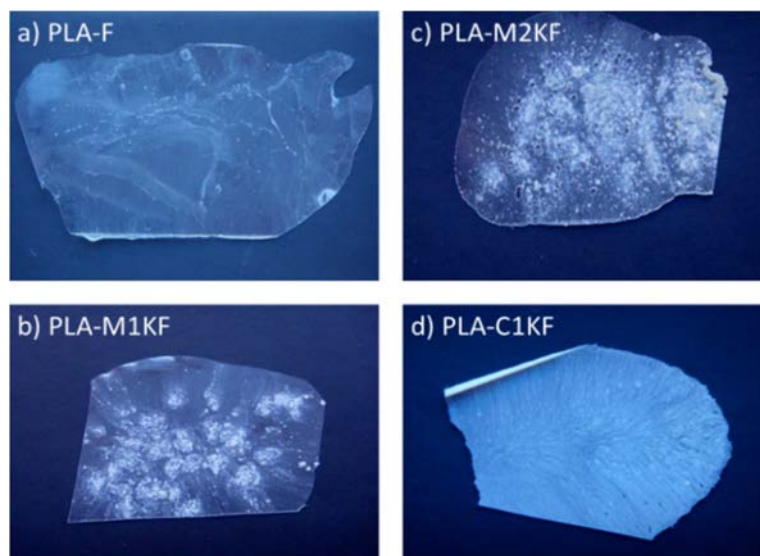


Figura 4.3.- Ejemplo de los materiales preparados en forma de películas. (PLA-F, polímero puro; PLA-M1KF, PLA con caolín 1 h de molienda mecánica a temperatura ambiente; PLA-M2KF, PLA con caolín 2 h de molienda mecánica a temperatura ambiente y PLA-C1KF, PLA con caolín 1 h de molienda criogénica).

Tabla 4.1.- Códigos y condiciones de preparación de los materiales estudiados.

Composición	Códigos de muestras	Tipo de HEBM	Nanorrelleno (Caolín 20% wt)	Película (prensado en caliente)
PLA	PLA	NO	NO	NO
	PLA-F	NO	NO	SÍ (190°C, 1h)
	PLA-M1	SÍ (rt., 1h)	NO	NO
	PLA-M1F	SÍ (rt., 1h)	NO	SÍ (190°C, 1h)
	PLA-M2	SÍ (rt., 2h)	NO	NO
	PLA-M2F	SÍ (rt., 2h)	NO	SÍ (190°C, 1h)
	PLA-C1	SÍ (Cryo, 1h)	NO	NO
	PLA-C1F	SÍ (Cryo, 1h)	NO	SÍ (190°C, 1h)
Caolín (K)	K	NO	NO	NO
	K-M1	SÍ (rt., 1h)	NO	NO
	K-M2	SÍ (rt., 2h)	NO	NO
	K-C1	SÍ (Cryo, 1h)	NO	NO
PLA-K	PLA-M1K	SÍ (rt., 1h)	SÍ	NO
	PLA-M1KF	SÍ (rt., 1h)	SÍ	SÍ (190°C, 1h)
	PLA-M2K	SÍ (rt., 2h)	SÍ	NO
	PLA-M2KF	SÍ (rt., 2h)	SÍ	SÍ (190°C, 1h)
	PLA-C1K	SÍ (Cryo, 1h)	SÍ	NO
	PLA-C1KF	SÍ (Cryo, 1h)	SÍ	SÍ (190°C, 1h)

Para comprobar la cantidad de nanopartículas de caolín añadidas (20,0 % wt/wt) a la matriz polimérica mediante la molienda de bolas de alta energía se llevó a cabo una calcinación completa a 500 °C de la materia orgánica de los materiales nanocompuestos (PLA-M1K, PLA-M2K y PLA-C1K) en una mufla Carbolite RHF 1400. El residuo obtenido fue de aproximadamente un 17,0% en peso, según el valor promedio obtenido de varias calcinaciones.



A continuación se muestran en la Tabla 4.2 el espesor promedio de cada una de las películas de este grupo de muestras estudiadas. Para cada muestra el espesor se midió en 5 puntos distintos en 3 películas distintas. Como error en las medidas se consideró la desviación estándar. Como se puede observar teniendo en cuenta todos los materiales preparados en forma de films se consiguió un espesor promedio de unos 76 μm .

Tabla 4.2.- Espesor de las películas de PLA de partida y nanocompuestos de PLA/Caolín.

Códigos de muestras	Espesor de Película (μm)
PLA-F	$68,6 \pm 5$
PLA-M1F	$67,4 \pm 6$
PLA-M2F	$76,0 \pm 15$
PLA-C1F	$73,3 \pm 11$
PLA-M1KF	$74,4 \pm 8$
PLA-M2KF	$87,0 \pm 19$
PLA-C1KF	$86,0 \pm 16$

4.2.2.- Métodos y técnicas instrumentales

Las condiciones de medición de las técnicas instrumentales utilizadas en esta sección, se realizaron según la descripción detallada en el capítulo 3 (véase apartado 3.1).

Para la caracterización morfológica y topográfica se utilizó la difracción de rayos X, la espectroscopia infrarroja mediante reflectancia total atenuada y microscopia electrónica de barrido. Los análisis térmicos se analizaron mediante termogravimetría y calorimetría diferencial de barrido.

El estudio mediante espectroscopia infrarroja se llevó a cabo utilizando un equipo Nicolette Avatar ATR-FTIR 360 en la región del infrarrojo medio (MIR) a temperatura ambiente.

4.2.2.1.- Actividad microbiana

Para el estudio de la proliferación bacteriana y formación de biopelículas (“biofilms”), se utilizó una cepa no patógena de *Pseudomona fluorescens* (B52) obtenida a partir de leche cruda según el método de Richardson y Te Whaitien [4] y se realizó en colaboración con el Departamento de Nutrición, Bromatología y Tecnología de los Alimentos de la Universidad Complutense de Madrid.

El pre-inóculo bacteriano se obtuvo después de una noche de crecimiento en caldo de triptona y soja (TSB) a 30 °C. Posteriormente, las células se recogieron por centrifugación a 4000 rpm durante 10 min, se lavaron en TSB y se repitió nuevamente el centrifugado y lavado de las células, seguidamente se diluyó a la concentración de 10^3 unidades formadoras de colonias (UFC) por ml^{-1} [5], estimada a partir de la medición de la densidad óptica de la absorbancia (establecida entre 0,12 y 0,15), en un Espectrofotómetro Digital Hitachi U-2800 en la región ultravioleta-visible a 600 nm.

Con objeto de prevenir y observar el crecimiento de otros tipos de bacterias en las películas, se realizó la prueba de pureza haciendo un raspado superficial en tres direcciones en una placa Petri que contenía agar-agar triptona y soja (TSA) en forma sólida que se emplea como medio de cultivo de crecimiento de la bacteria en estudio (B52).

Previo al desarrollo de las biopelículas y con el fin de desinfectar y evitar la contaminación, los materiales en forma de películas con áreas de aproximadamente 1 cm^2 se depositaron sobre portamuestras de acero inoxidable de 12 mm de diámetro, se pegaron con cianoacrilato y se trataron en autoclave a 121 °C durante 15 min. Luego, las películas depositadas se transfirieron a placas multipocillos estériles conteniendo un cultivo puro de *Pseudomonas fluorescens* (B52) (0,1 ml) y TSB (0,9 ml). Una vez envueltas las placas multipocillos en papel aluminio para evitar la evaporación de la disolución de cultivo, las películas se incubaron en condiciones aerobias a 30 °C con agitación continua a 80 rpm con el fin de obtener una buena dispersión de las bacterias sobre las películas.



Transcurridas 24 h los materiales objeto de estudio se retiraron de la placa multipocillo y se enjuagaron con disolución de cloruro de sodio (NaCl 0,9%) para eliminar las células sobrenadantes no unidas a la película e inmediatamente fueron observados por AFM y SEM. En cada ensayo se utilizaron 3 películas de cada muestra para su estudio por AFM, SEM y conteo bacteriológico respectivamente.

El agar triptona y soja (TSA) se utilizó como medio de cultivo para el recuento de bacterias por su presentación en formato sólido. Después del lavado de las muestras con agua salina, se realizó un raspado mediante bastoncillos de algodón estériles sobre la superficie de las muestras seleccionadas. Seguidamente los bastoncillos se introdujeron en tubos de ensayos con agua de peptona, previamente etiquetados con el nombre de cada muestra, se taparon y agitaron durante 1 min con el fin de promover la dispersión de las bacterias en el medio líquido. Con la ayuda de una pipeta se retiraron y colocaron 3 gotas de cada muestra separadas en placas Petri con TSA y se incubaron durante 24 h a 30 °C.

Transcurridas las 24 h de incubación se realizó el recuento de las bacterias con ayuda de una lupa. Los datos de los recuentos del crecimiento en las placas de Petri se describen como unidades formadoras de colonias (UFC) por mililitro, $\text{ufc}\cdot\text{ml}^{-1}$. Normalmente una UFC se corresponde con una célula viable. Para saber la cantidad o unidades formadoras de colonias total se dividió el resultado promedio del recuento de bacterias de las tres gotas por el área de la película adherida sobre el portamuestras (1 cm^{-2}). Las películas de PLA puro sirvieron como grupo control.

4.3.- Resultados y discusión

4.3.1.- Caracterización de materiales PLA/Caolín

La Figura 4.4 muestra una comparación entre los difractogramas de las muestras de caolín sometidas a diferentes tratamientos.

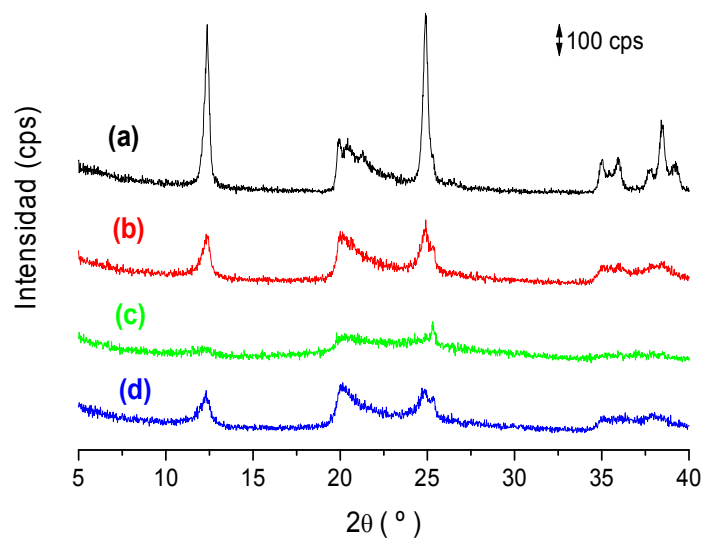


Figura 4.4.- Difractogramas de rayos X de: a) caolín; b) caolín molido durante 1 h; c) caolín molido durante 2 h y; d) caolín molido durante 1 h en condiciones criogénicas.

En el caolín de partida la mayoría de los picos son intensos y estrechos, lo que refleja una arcilla cristalina y confirma la abundante presencia de caolinita ($\text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4$) [6]. Además, también se observan otros picos menos intensos correspondientes a otros espaciados interplanares del caolín [7].

Como resultado de la molienda, la intensidad de los picos de difracción más intensos disminuye, siendo este efecto más acusado a medida que aumenta el tiempo de molienda. Por otro lado, la temperatura de molienda no mostró mucho efecto sobre la estructura del caolín. Como se puede observar, independientemente de la temperatura de molienda, para la molienda activa de 1 h la cristalinidad del caolín se reduce aproximadamente en un 54%. Sin embargo, para 2 h de molienda activa a temperatura ambiente la cristalinidad disminuye aproximadamente el doble, 96%.

Por otro lado, la Figura 4.5 (a) muestra los difractogramas de rayos X de PLA en forma de polvos y la Figura 4.5 (b) los del PLA en forma de película, para diferentes condiciones de molienda. En ambas figuras se incluye el difractograma del PLA de partida (PLA) a efectos comparativos.



Se observa cómo el proceso de molienda afecta a la estructura de PLA disminuyendo principalmente su cristalinidad como ocurrió con el caolín (véase Figura 4.4). Sin embargo, el proceso de prensado en caliente permite recuperar la cristalinidad del PLA como se ilustra en la Figura 4.5 (b).

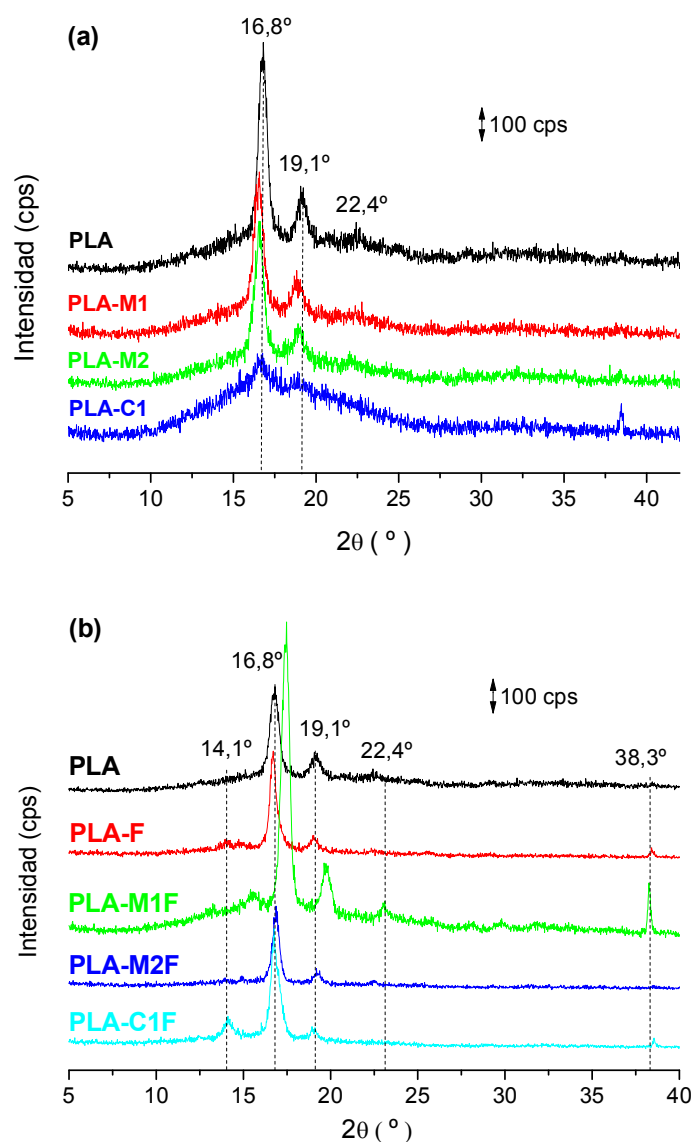


Figura 4.5.- Difractogramas de rayos X del PLA obtenidos en función de las condiciones de procesado: (a) en forma de polvos y (b) en forma de películas.

Se observan picos más agudos y la aparición de otros nuevos (por ejemplo a $2\theta = 14.1^\circ$ asignado al plano 010) en las películas analizadas, indicando que hay un mayor orden

estructural. Este mayor orden estructural, además se puede confirmar por el mayor porcentaje de fracción cristalina en los materiales, calculada según la ecuación 3.1. Todos estos datos señalan la formación de la llamada fase α asociada a una estructura más ordenada y compacta con respecto a la fase α' [11]. Según Pan y colaboradores, en general, las reflexiones observadas en el PLA de partida (PLA), son indicativas de la llamada estructura α' [8].

La Figura 4.6 muestra los difractogramas de difracción de rayos X de las muestras de PLA/Caolín obtenidos a partir de diferentes condiciones de procesado, ya sea en forma de polvos, Figura 4.6 (a) o en forma de películas, Figura 4.6 (b). En ambas figuras se incluye el difractograma del PLA (PLA) y caolín (K) de partida a efectos comparativos.

Para las muestras en forma de polvo se observa que tanto en el caso del PLA como en el caso del caolín la cristalinidad disminuye significativamente, siendo este efecto más severo cuando la molienda se realiza en condiciones criogénicas. Sin embargo, después del prensado en caliente se observa que la cristalinidad del PLA se recupera e incluso aumenta ligeramente como se puede apreciar en la Figura 4.6 (b). Por su parte, los picos asociados al caolín siguen teniendo una intensidad relativamente baja, lo que podría ser indicativo de que se ha producido una buena dispersión de la arcilla dentro de la matriz polimérica del PLA en donde se esperaría encontrar una fracción importante del material exfoliado.

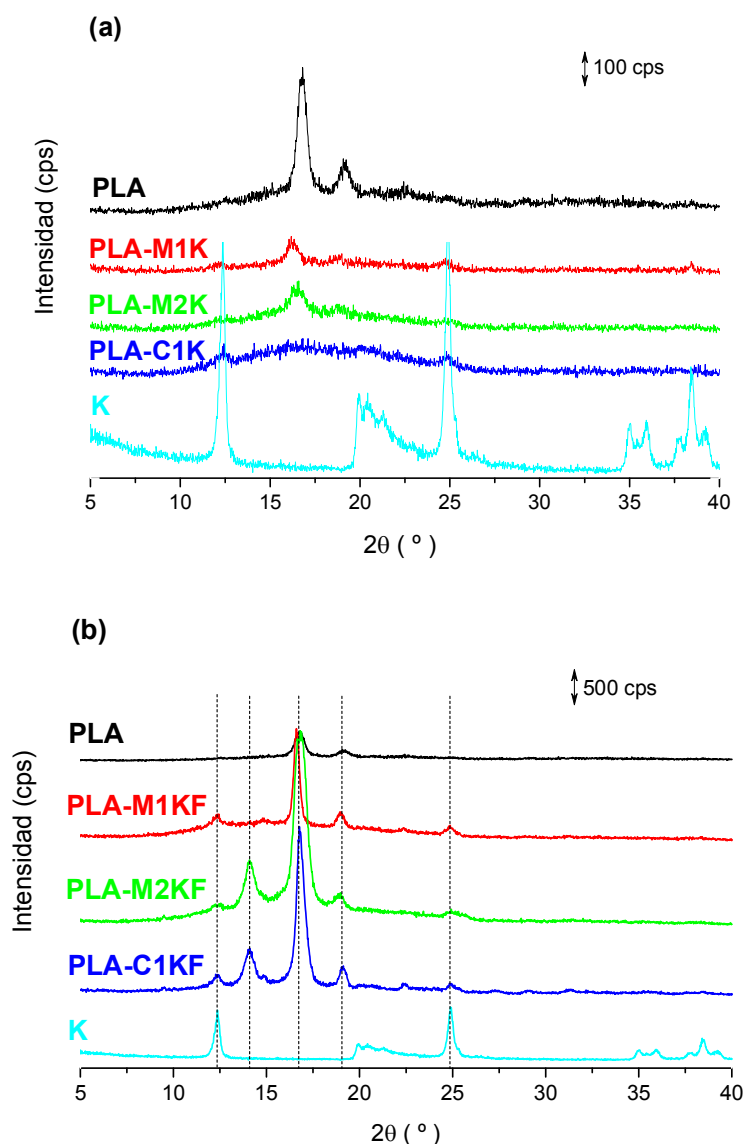


Figura 4.6.- Difractogramas de rayos X de los materiales compuestos PLA/caolín obtenidos en función de las condiciones de procesado para las muestras en forma de: (a) polvos y (b) películas. (Nota: Los difractogramas del PLA y caolín de partida se han incluido con fines comparativos).

A modo de resumen en la Tabla 4.3 se muestra la cristalinidad obtenida a partir de los difractogramas de rayos X de las muestras estudiadas. Los datos de cristalinidad se obtuvieron a partir de la ecuación 3.1. La cristalinidad del PLA en las muestras nanocompuestas se determinó sin considerar la contribución de las partículas.

Tabla 4.3.- Porcentaje de cristalinidad de las muestras analizadas.

Muestras	XRD w_c (%)	Muestras	XRD w_c (%)	Muestras	XRD w_c (%)
PLA	21,0	PLA-F	23,9	K	23,3
PLA-M1	17,2	PLA-M1F	25,8	K-M1	10,8
PLA-M2	17,2	PLA-M2F	22,4	K-M2	1,0
PLA-C1	1,1	PLA-C1F	28,8	K-C1	3,0
PLA-M1K	6,0	PLA-M1KF	17,9		
PLA-M2K	6,4	PLA-M2KF	37,5		
PLA-C1K	1,0	PLA-C1KF	39,4		

A tenor de los resultados parece que los procesos de molienda destruyen principalmente la estructura ordenada del caolín, siendo la temperatura, el factor que más afecta a la estructura cristalina. En general, el mayor grado de cristalinidad se obtuvo para la película de material nanocompuesto procedente de la realización de una molienda durante 1 h en condiciones criogénicas (PLA-C1KF), $w_c = 39,4\%$. Se observó que la intensidad de los picos permanece casi constante, excepto para la muestra de PLA-M1F, donde se produce un desplazamiento de los picos. Cabe mencionar, que el aumento en la cristalinidad del PLA, principalmente en las películas, es probablemente debido a una orientación preferencial de las cadenas poliméricas provocado por la presión caliente.

En la Figura 4.7 se muestran los espectros ATR-FTIR de las muestras de caolín para cada una de las condiciones de procesado estudiadas.

Sólo en el caso de las muestras de caolín comerciales se pueden identificar cuatro bandas asignadas a vibraciones de tensión de grupos estructurales de tipo hidroxilo, O-H, a 3690, 3668, 3649 y 3619 cm^{-1} , respectivamente. Todos ellos se asocian a vibraciones de tensión O-H donde: i) la banda a 3690 cm^{-1} se puede asociar a grupos -OH libres o grupos hidroxilo externos de la estructura del caolín; ii) la banda a 3668 cm^{-1}



normalmente es indicativa de la existencia de enlaces de hidrógeno en la intercapa en los cuales la mayor componente de los enlaces es perpendicular al plano basal; iii) la banda a 3649 cm^{-1} apunta a grupos OH en los que los hidrógenos se dirigen o caen en dirección a los sitios octaédricos vacíos, dando lugar a una orientación de enlace para la cual la mayor componente es paralela al plano basal y iv) la banda a 3619 cm^{-1} se puede asignar a las tensiones OH formando enlaces de hidrógeno en la intercapa y en los que están involucrados dos grupos hidroxilo basales de una cara y los dos oxígenos que quedan en el tetraedro de sílice opuesto.

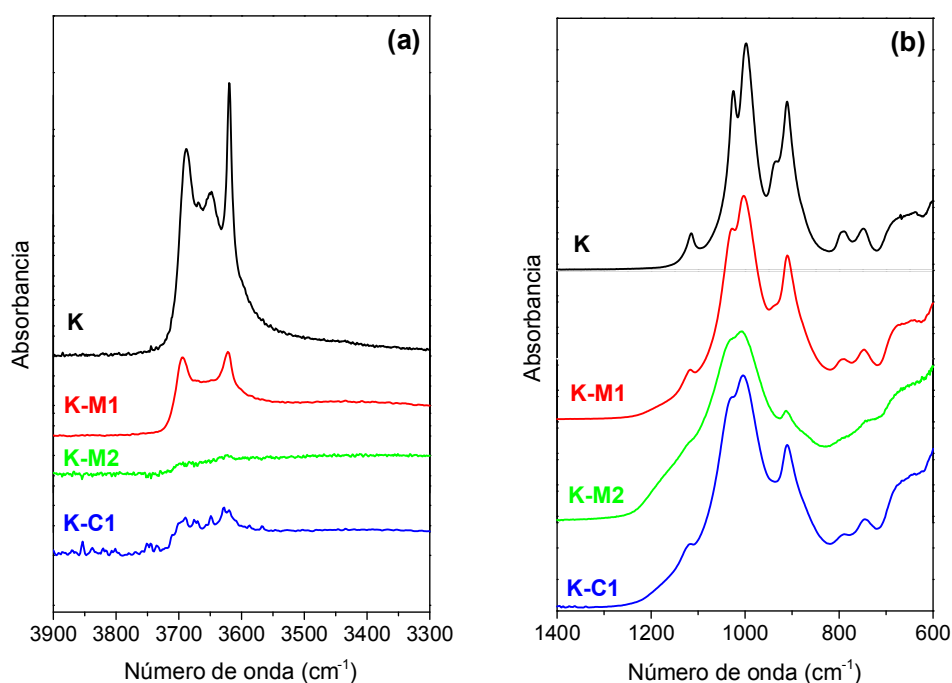


Figura 4.7.- Espectro ATR-FTIR de muestras de caolín en dos regiones diferentes.

En el caso del caolín y en contraste con los resultados de XRD (véase Figura 3.9) la buena resolución de los picos de infrarrojo sugieren que el mineral está bastante bien ordenado. Las bandas de IR asociadas a grupos OH de las intercapas (3690 , 3668 , 3649 cm^{-1}) pueden cambiar cuando diferentes tipos de moléculas aparecen intercaladas entre las capas de caolín ya que pueden aparecer nuevas interacciones con dichas moléculas.

Sin embargo, la banda a 3619 cm^{-1} correspondiente a los grupos OH internos normalmente no se ve afectada por este tipo de intercalaciones [9].

Por otro lado, cuando se lleva a cabo la molienda, la resolución así como la intensidad de los picos del infrarrojo en la región de $3800\text{-}3500\text{ cm}^{-1}$ disminuye. Además hay un pequeño desplazamiento de las bandas de aproximadamente 5 cm^{-1} a energías más altas que probablemente indica la ausencia de grupos internos OH por destrucción de la estructura en forma de láminas del caolín.

Algo similar se observa cuando se considera la región del infrarrojo medio entre $1300\text{-}700\text{ cm}^{-1}$ (Figura 4.7b). La banda principal en esta región se puede encontrar a 913 cm^{-1} y corresponde a la vibración de deformación de los grupos OH internos superficiales. Por otro lado, la banda situada alrededor de 936 cm^{-1} se asigna a los grupos OH superficiales, y la vibración de Si-O da lugar a bandas localizadas en 1114 , 1032 y 1008 cm^{-1} , respectivamente.

Por otra parte, un aumento en el tiempo de molienda dio como resultado un mayor daño estructural del caolín. Este efecto puede verse en los espectros menos estructurados y con menor intensidad obtenidos en la muestra K-M2 (véase Figura 4.7b), así como en la reducción significativa de la intensidad de la banda de tensión Si-O a 1114 cm^{-1} asignada a la nueva superficie creada del producto. La banda a 1025 cm^{-1} también puede tener una contribución de moscovita y el pico a 791 cm^{-1} puede asignarse al cuarzo que suele estar presente como impureza en el caolín, lo que está de acuerdo con los resultados de difracción de rayos X (Figura 4.4) [3,9,10]. Este resultado está completamente de acuerdo con los obtenidos por Frost y colaboradores [11], quienes demostraron que los grupos hidroxilos de la caolinita se pierden después de 10 h de molienda. Este resultado quedó evidenciado en la disminución de la intensidad de las vibraciones de tensión OH en 3695 y 3619 cm^{-1} y los modos de deformación en 937 y 915 cm^{-1} lo que permitió concluir que la activación mecano-química (molienda en seco) causa la destrucción de la estructura cristalina de la caolinita por la ruptura de los enlaces O-H, Al-OH, Al-O-Si y Si-O.



La Figura 4.8 muestra los espectros ATR-FTIR de ácido poliláctico bajo diferentes condiciones de procesado.

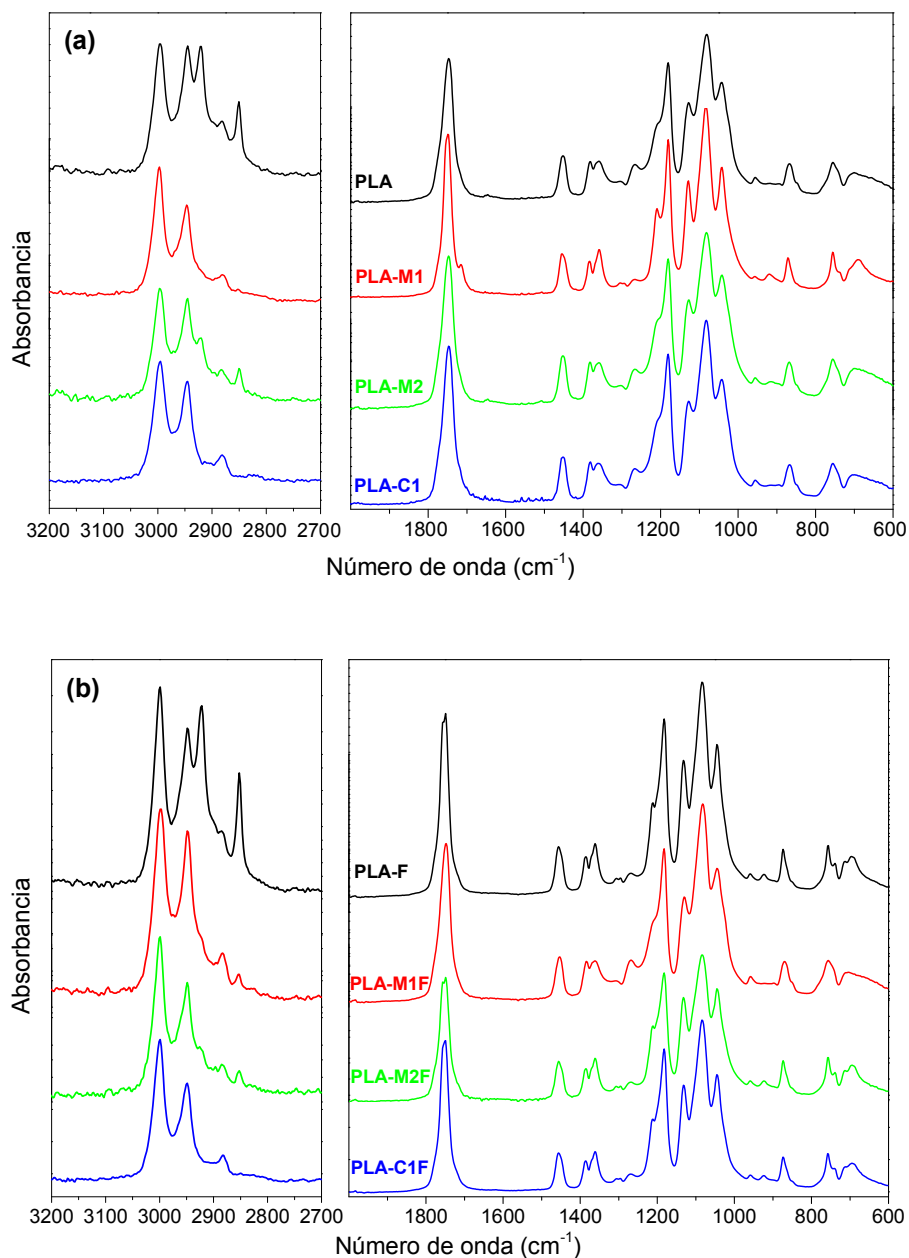


Figura 4.8.- Espectro ATR-FTIR de PLA sometido a diferentes tratamientos en forma de: (a) polvos y (b) películas.

Se puede apreciar que para las bandas localizadas a 2850 y 2920 cm^{-1} , asignadas a la vibración de tensión simétrica de CH, CH_3 y a la deformación antisimétricas de CH, CH_3 ,

respectivamente, la intensidad tiende a disminuir a medida que aumenta el tiempo de molienda.

En la Figura 4.9 ilustra los espectros infrarrojos de las muestras de material nanocompuesto de PLA/Caolín en forma de películas para cada una de las condiciones de procesado estudiadas.

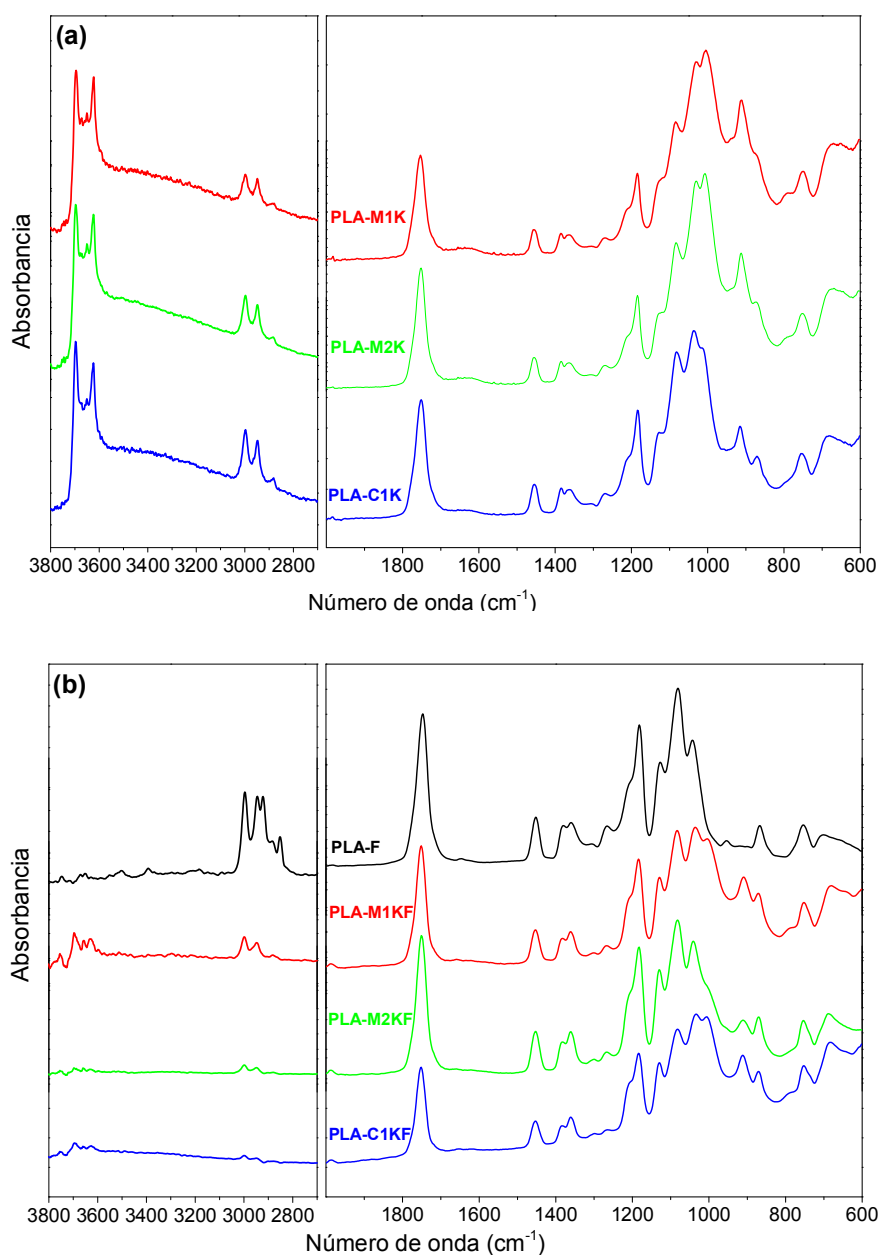


Figura 4.9.- Espectro ATR-FTIR de PLA y materiales nanocompuestos de PLA/Caolín sometido a diferentes tratamientos: (a) polvos y (b) películas.



En la Figura 4.9 (a) para las muestras en polvo se pueden observar todos los picos relacionados con el PLA y caolín de partida mientras que para las películas de los materiales nanocompuestos PLA/Caolín en la Figura 4.9 (b) no se distinguen los picos localizados en la región de entre 3800 y 3400 cm^{-1} , lo que nos sugiere que las bandas se ven afectadas por la presión en caliente

Es bien conocido que el ácido poliláctico (PLA) presenta regiones en el infrarrojo medio que son altamente sensibles a los cambios estructurales. La mayoría de estos cambios se deben a transformaciones entre la fase amorfa y las fases cristalinas α y α' . En estudios anteriores se ha demostrado que las características espectrales en la región de vibración correspondiente a los modos $\nu_{as}(\text{C-O-C}) + \rho_{as}(\text{CH}_3)$, es decir, entre 1260 y 1160 cm^{-1} , son significativamente diferentes entre los cristales α' y α [8]. En cuanto a los resultados obtenidos no se observaron diferencias significativas. Únicamente, la banda localizada cerca de 1750 cm^{-1} parece estar mejor definida, lo que puede ser indicativo de un mayor grado de cristalinidad. De hecho, las muestras con una banda en el infrarrojo bien definida a 1210 cm^{-1} coinciden con los resultados de rayos X que tienen una estructura más ordenada.

En la Figura 4.10 se muestran las micrografías de SEM obtenidas a partir de la señal de electrones retrodispersados (BSE) para los materiales nanocompuestos en forma polvos y films respectivamente con objeto de comparar las posibles diferencias existentes. Se observa que no existen grandes diferencias de contraste dentro de los materiales en forma de polvos. Por tanto, nada se podría decir sobre la dispersión del caolín dentro de las partículas de polvo PLA/Caolín. Lo único que se puede observar de manera concluyente es que el tamaño de las partículas de polvo PLA/Caolín es más pequeño cuando se trabaja en condiciones de molienda criogénica.

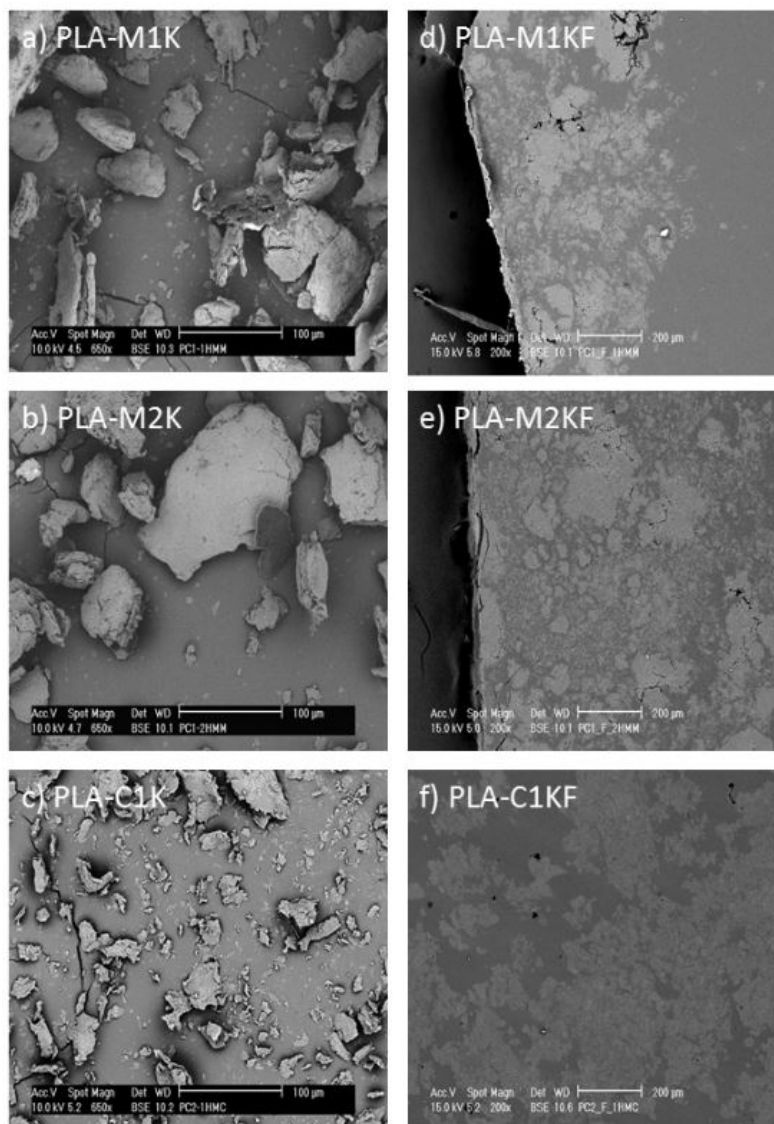


Figura 4.10.- Micrografías obtenidas por SEM con el detector de electrones retrodispersados (BSE) de muestras de PLA rellenas con caolín (20 % wt/wt) en forma de polvos: a) HEBM 1 h, b) HEBM 2 h, c) HEBM 1 h en condiciones criogénicas y en forma de películas: d) HEBM 1 h, e) HEBM 2 h y, f) HEBM 1 h en condiciones criogénicas.

En el caso de las películas se distinguen dos áreas claramente visibles, una región más oscura asociada a una región con elementos de menor masa atómica que correspondería a la matriz del polímero (PLA) y una más clara que debería corresponder a una región rica en caolín con elementos más pesados que son los que producen mayor intensidad en la señal de los BSE. De la comparación entre las muestras en forma de películas se pueden hacer tres observaciones en términos de uniformidad de la dispersión del caolín: i) cuando el tiempo de molienda aumenta de 1 a 2 h la dispersión



de caolín mejora (muestras PLA-M1KF y PLA-M2KF); ii) cuando la molienda se lleva a cabo en condiciones criogénicas la dispersión de caolín mejora (muestras PLA-M1KF y PLA-C1KF) y iii) el impacto de la temperatura sobre la dispersión de caolín es mayor que el tiempo de molienda (muestras PLA-M2KF y PLA-C1KF). Estos resultados sobre la dispersión de las partículas están completamente de acuerdo con el grado de dispersión de caolín mostrados por los resultados de rayos X y ATR-FTIR y por lo tanto, con lo que podría ser un mayor grado de exfoliación a menor temperatura y más tiempo de molienda.

Con el fin de investigar el efecto de la presencia de nanopartículas de caolín en la cristalización de la matriz del PLA, se realizó una caracterización de los materiales a partir de calorimetría diferencial de barrido (DSC). En concreto, se hará uso de los resultados obtenidos a partir del segundo calentamiento obtenidos a una velocidad de 20 °C/min, es decir, tras eliminar la historia térmica debida al procesado.

En la Figura 4.11 (a) y (b) se muestran las curvas de DSC obtenidas para las muestras de PLA y PLA/Caolín en forma de polvos, respectivamente, para cada una de las condiciones de molienda estudiadas. En ambas figuras se ha añadido la traza de DSC del PLA de partida como control para realizar las pertinentes comparaciones.

Si comparamos los valores de T_g obtenidos para las muestras de PLA en función de las condiciones de procesado, al comparar las muestras de PLA, PLA-M1 y PLA-M2, vemos que la T_g permanece prácticamente constante con el tiempo de molienda, si bien parece que existe una ligera disminución de la T_g con el tiempo de molienda, pero esta disminución no es significativa. Si nos fijamos en el efecto de la temperatura de molienda, al comparar las muestras PLA-M1 y PLA-C1, existe una diferencia de 1 °C, por lo que tampoco se observan diferencias significativas. Podemos concluir, por tanto, que las condiciones de procesado no afectan de forma significativa a los valores de la temperatura de transición vítrea en las muestras de PLA estudiadas.

Por otra parte, si nos fijamos en las muestras de los materiales compuestos PLA-M1K, PLA-M2K y PLA-C1K, vemos que prácticamente no existen diferencias significativas entre ellos, encontrándose una temperatura de transición vítrea de aproximadamente 65 °C, que es ligeramente superior a la del PLA de partida. Sin embargo, esta diferencia no es muy grande (alrededor de unos 2 °C) y podría atribuirse a la presencia del caolín y no a las condiciones de procesado. De nuevo, podemos concluir que las condiciones de procesado no afectan a la T_g de los materiales estudiados, PLA y PLA/Caolín en forma de polvo.

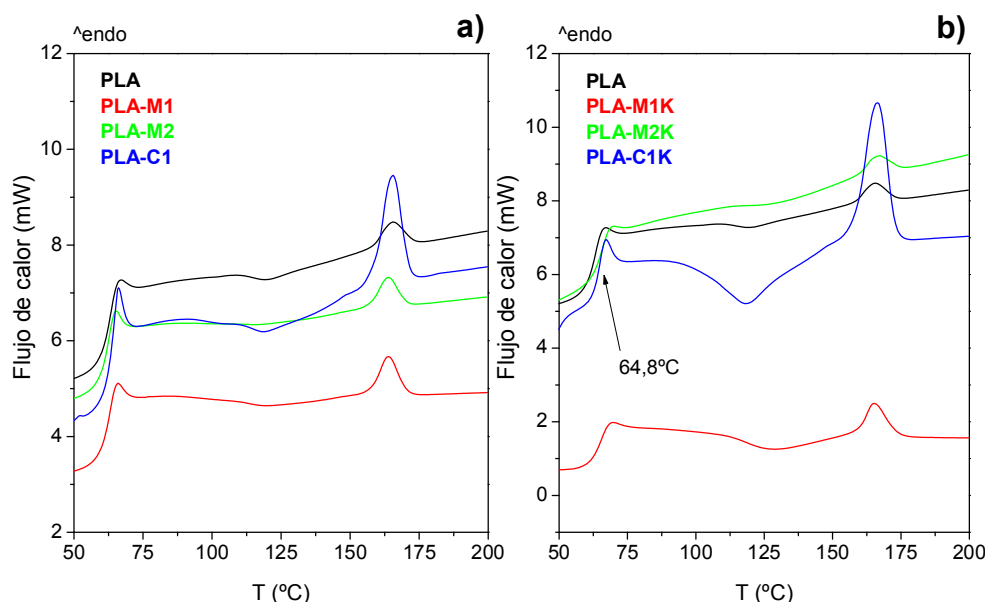


Figura 4.11.- Curvas de DSC obtenidas en el segundo calentamiento a 20 °C/min para las muestras molidas en forma de polvos correspondientes a: PLA y, b) PLA/Caolín para cada una de las condiciones de procesado estudiadas.

En la Tabla 4.4 se resumen las temperaturas de transición vítrea (T_g), de cristalización (T_c) y de fusión (T_m), las entalpías (ΔH) y los porcentajes de cristalinidad (X) en la cristalización y real, calculadas en función de la masa del polímero para las muestras de PLA y PLA/Caolín en forma de polvos. Se describen los cambios que se producen al hacer el segundo barrido de calentamiento. Para Fukushima y otros autores [12], la $T_c = 119$ °C y la $T_m = 153$ °C respectivamente, mientras que para M. Onayari y otros [13], la $T_g = 47,5$ °C y la $\Delta H_m = 34,9$ J/g.



Tabla 4.4.- Temperaturas de transición vítrea, cristalización y fusión, entalpías de cristalización en frío, entalpía de fusión y fracción cristalina generada en frío y fracción cristalina real para las muestras de PLA y PLA/Caolín en forma de polvos.

Muestras	T _g (°C)	T _c (°C)	ΔH _{c-c} (J/g polímero)	X _{c-c} (%)	T _m (°C)	ΔH _{c-m} (J/g polímero)	X _{real} (%)
PLA	63,2	120,4	1,07	1,14	165,3	1,83	0,82
PLA-M1	62,9	119,2	1,06	1,13	163,8	2,58	1,63
PLA-M2	62,5	117,8	1,04	1,11	163,7	2,16	1,20
PLA-C1	64,2	119,8	1,96	2,09	165,6	7,67	6,10
PLA-M1K	65,6	125,2	1,91	2,04	164,4	3,54	1,74
PLA-M2K	65,3	126,6	2,04	2,17	165,2	3,50	1,56
PLA-C1K	64,8	119,2	6,68	7,13	166,2	17,9	12,0

La transición vítrea es un fenómeno complejo pues depende de muchos factores tales como la flexibilidad de la cadena, la masa molecular, las ramificaciones, el entrecruzamiento, las interacciones intermoleculares, y los efectos estéricos. Por lo general, la T_g de una matriz polimérica tiende a aumentar con la adición de nanopartículas debido a las interacciones entre las cadenas del polímero y las nanopartículas reduciendo la movilidad macromolecular de la cadena en la zona que rodea las nanopartículas o interfase. Para Bikiaris y otros autores, este incremento en la T_g después de la adición del relleno podría atribuirse a la disminución en el volumen libre en la matriz del polímero debido a las interacciones específicas entre las nanopartículas y el polímero [14].

A partir de estos datos vemos que la temperatura (tomada en el mínimo del pico de cristalización) prácticamente no varía con el procesado en las muestras de PLA, pues oscila entre 118-120 °C, si bien la temperatura más baja se obtiene para la muestra sometida a 2 h de molienda, lo que podría indicar que es algo menos cristalina.

En los materiales compuestos PLA/Caolín, en general se obtienen T_c ligeramente superiores a las del PLA, si bien si comparamos la muestra de PLA-C1 y PLA-C1K prácticamente no hay diferencias en la T_c .

En relación a la entalpía asociada al proceso de cristalización, ésta aumenta cuando el procesado se realiza en condiciones criogénicas. En el caso del PLA se observa un ligero aumento (véase muestras PLA, PLA-M1, PLA-M2 y PLA-C1). Sin embargo, cuando trabajamos con los materiales compuestos, la entalpía asociada a este proceso aumenta en primer lugar debido a la introducción del material de relleno y, en segundo lugar, con la temperatura de molienda. Cuando el proceso se hace en condiciones criogénicas la entalpía aumenta considerablemente, probablemente sea debido a las fuertes fuerzas de cizalla que inducen una mayor orientación de las cadenas poliméricas a su vez reforzada por la interacción con el material de relleno. Estos resultados son comparables con el grado de cristalinidad en frío, donde se observa una ligera disminución de la cristalinidad para la muestra molida a 2 h y un similar aumento en la cristalinidad debido a la presencia de partículas y temperatura de molienda.

En relación a la temperatura de fusión, T_m , parece que hay un ligero descenso con el proceso de molienda a temperatura ambiente (PLA-M1 y PLA-M2), pero estas diferencias no son significativas con respecto al PLA de partida. Prácticamente la T_m está alrededor de los 164-165 °C. En general, la T_m de los materiales compuestos PLA/Caolín es superior a la obtenida para el PLA procesado en las mismas condiciones, lo que podría atribuirse al efecto del material de relleno.

En cuanto a la entalpía asociada al proceso de fusión, al igual que en el caso de la cristalización, llama la atención el valor extremadamente alto obtenido para las muestras procesadas en condiciones criogénicas. Este resultado apunta a una mayor orientación de las cadenas del polímero inducida probablemente por las fuertes fuerzas de cizalla que tienen lugar entre las bolas del molino (en el caso del PLA-C1) y las debidas a la propia presencia de las partículas del material de relleno (en el caso del PLA-C1K).



De hecho, es en esta muestra (PLA-C1K) en la que se observa el mayor grado de cristalinidad.

A continuación vamos a centrarnos en el estudio de las condiciones de procesado en las muestras en forma de películas.

En la Figura 4.12 (a) se ilustran las trazas de DSC de las películas de PLA y en la Figura 4.12 (b) se muestran los termogramas de DSC de las películas de los materiales nanocompuestos de PLA. En ambas figuras se ha añadido la traza de DSC del PLA de partida como control para realizar las pertinentes comparaciones.

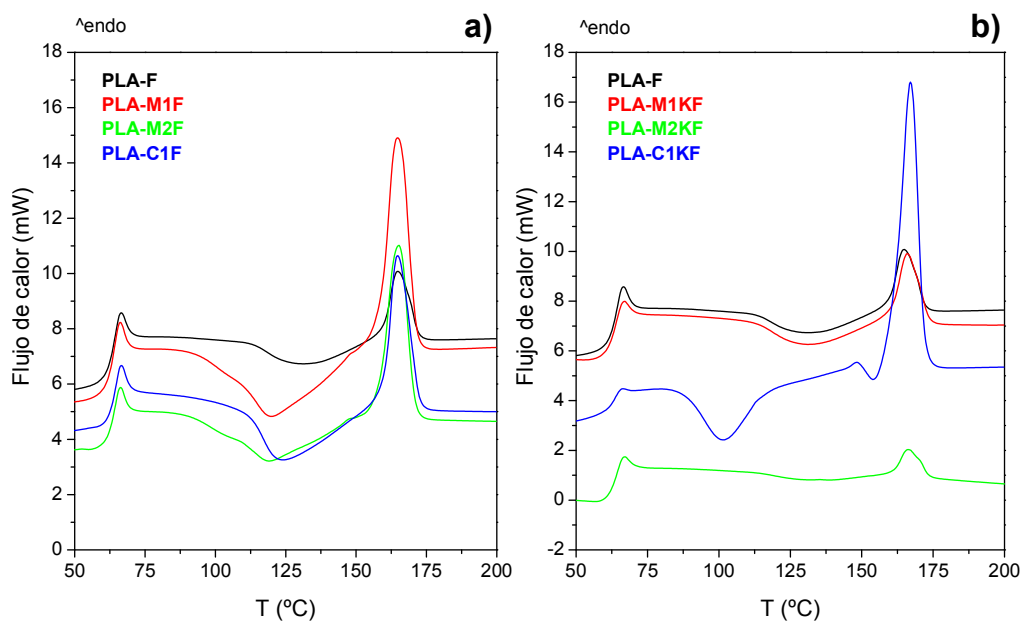


Figura 4.12.- Curvas de DSC obtenidas en el segundo calentamiento a 20 °C/min para las muestras en forma de películas correspondientes a: a) PLA y, b) PLA/Caolín para cada una de las condiciones de procesado estudiadas.

Si comparamos los valores de T_g obtenidos para las muestras en forma de películas en función de las condiciones de procesado vemos que permanece prácticamente constante (~ 64 °C) independientemente de la temperatura de molienda y de la presencia de caolín, si bien parece que existe una ligera disminución para la muestra

nanocompuesta molida criogénicamente (PLA-C1KF), esta disminución no es significativa.

Por otra parte, vemos que la temperatura de cristalización, T_c , disminuye al compararla con el PLA en función del procesado, sin embargo, se observa un cambio significativo para la muestra en condiciones criogénicas y en presencia de partículas, lo que podría indicar que la buena dispersión de las partículas en la matriz polimérica influye en la cristalinidad del material.

En la Tabla 4.5 se resumen las temperaturas de transición vítrea (T_g), de cristalización (T_c) y de fusión (T_m), las entalpías (ΔH) y los porcentajes de cristalinidad (X) en la cristalización y real, calculadas en función de la masa del polímero para las muestras de PLA y PLA/Caolín en forma de películas. Se describen los cambios que se producen durante el segundo barrido de calentamiento.

Tabla 4.5.- Temperaturas de transición vítrea, cristalización y fusión, entalpías de cristalización en frío, entalpía de fusión y fracción cristalina generada en frío y fracción cristalina real para las muestras de PLA y PLA/Caolín en forma de películas.

Muestras	T_g (°C)	T_c (°C)	ΔH_{c-c} (J/g polímero)	X_{c-c} (%)	T_m (°C)	ΔH_{c-m} (J/g polímero)	X_{real} (%)
PLA-F	64,2	127,1	2,6	2,78	165,0	7,4	5,15
PLA-M1F	64,2	119,5	7,6	8,08	164,8	24,2	17,7
PLA-M2F	64,2	118,9	8,1	8,66	165,3	22,9	15,8
PLA-C1F	64,5	122,9	8,7	9,27	164,6	18,1	10,1
PLA-M1KF	64,2	127,8	3,5	3,75	166,0	10,7	7,65
PLA-M2KF	64,3	128,6	1,3	1,39	166,3	4,8	3,72
PLA-C1KF	63,6	101,6	16,4	17,5	167,1	45,0	30,5

Las entalpías asociadas tanto al proceso de fusión como de cristalización tienden a aumentar significativamente debido al proceso de molienda, dato que se puede comparar con el grado de cristalinidad de las muestras de PLA. En el caso de los



materiales compuestos, si comparamos PLA-M1KF y PLA-M2KF, vemos que el tiempo de molienda disminuye el grado de cristalinidad de las muestras. En el caso de la molienda criogénica, comparando las muestras PLA-M1KF y PLA-C1KF, se observa un aumento muy notable de la cristalinidad. Al igual que en el caso de las muestras en forma de polvo, probablemente sea debido a una mayor orientación de las cadenas poliméricas inducida por las altas fuerzas de cizalla.

El valor de la T_g está directamente relacionado con los movimientos macromoleculares en el polímero. Por tanto, cuanto mayor es la cristalinidad, mayor debe ser la restricción en la movilidad de las cadenas y mayor la energía necesaria para moverlas en la fase amorfa. Como consecuencia, la temperatura para pasar de un estado vítreo a un estado gomoso debería ser mayor, es decir, que el aumento de la T_g podría interpretarse a partir de la consideración de una simple disminución del contenido de la fase amorfa formada por cadenas con movimientos más restringidos por la presencia de mayor cantidad de fase cristalina [15].

Si comparamos los resultados correspondientes a las muestras procesadas en forma de polvos (Figura 4.11) y las muestras procesadas en forma de películas (Figura 4.12) podemos concluir que la cristalinidad final es mayor para las muestras en forma de películas, en el caso de la molienda en condiciones criogénica ejerce un efecto sobre la estructura molecular rompiendo las cadenas lo que conduce a una mayor capacidad de ordenamiento.

Para las muestras sin relleno de caolín, los valores de la entalpía por gramo de polímero dependen del tiempo y tipo de molienda. Los mayores valores de ΔH_{c-c} y ΔH_{c-m} para las muestras molidas en condiciones criogénicas indican que la incorporación de la arcilla promueve considerablemente el proceso de cristalización dando lugar a mayor fracción cristalina del PLA. Es importante subrayar que en general la incorporación de las nanopartículas aumenta la temperatura de fusión que posiblemente se asocie a la forma o fase α (Figuras 4.11 y 4.12). Por tanto, en estos casos podría estar favorecida una transformación de la estructura cristalina desde la fase β del PLA a la fase α [16].

La caracterización térmica de las muestras se completó mediante el análisis termogravimétrico (TGA). El análisis termogravimétrico se utilizó para determinar las temperaturas de máxima velocidad de degradación permitiendo realizar un estudio sobre la influencia del procesado y la presencia de caolín en la estabilidad térmica del PLA. En la Tabla 4.6 se recogen las temperaturas características de la degradación térmica y de estabilidad de las muestras con o sin nanopartículas (bajo atmósfera de nitrógeno).

En la Figura 4.13 (a), para el caolín, se ilustran las típicas curvas termogravimétricas donde se representa la cantidad relativa de material (en porcentaje en peso) frente a la temperatura y en la Figura 4.13 (b) el cambio de masa respecto a la temperatura (curva derivada, termogravimetría diferencial) en función de la temperatura. En la Figura 4.13 (a) se observó que la descomposición térmica del caolín se da aproximadamente a 450 °C [17], por encima de las muestras molidas, es decir, que el caolín de partida presenta una estabilidad térmica más alta. Para la T_p que corresponde a la deshidratación de las muestras molidas, disminuyen con respecto al caolín de partida.

Para las muestras de PLA molidas bajo diferentes condiciones. En la Figura 4.14 (a) se representa el porcentaje en peso en función de la temperatura y en la Figura 4.14 (b) la primera derivada de la Figura 4.14 (a). En ambas figuras se incorporó el resultado de termogravimetría del PLA de partida (PLA) a efectos comparativos. La T_5 , T_{95} y T_p para la muestra de PLA de partida (PLA) y muestras molidas a diferentes condiciones de temperaturas y tiempo de molienda presentaron valores muy similares [18].

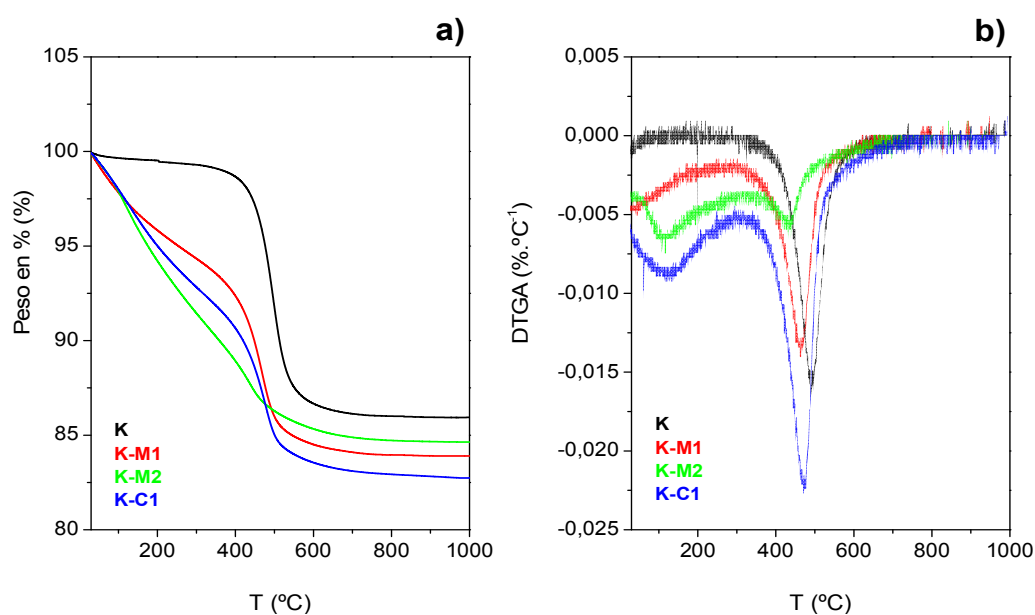


Figura 4.13.- Análisis termogravimétrico (TGA) de las muestras de caolín molidas en diferentes condiciones de procesado de la a) curva de variación de porcentaje en peso con la temperatura (TGA) y, b) DTGA - primera derivada del porcentaje peso con la temperatura.

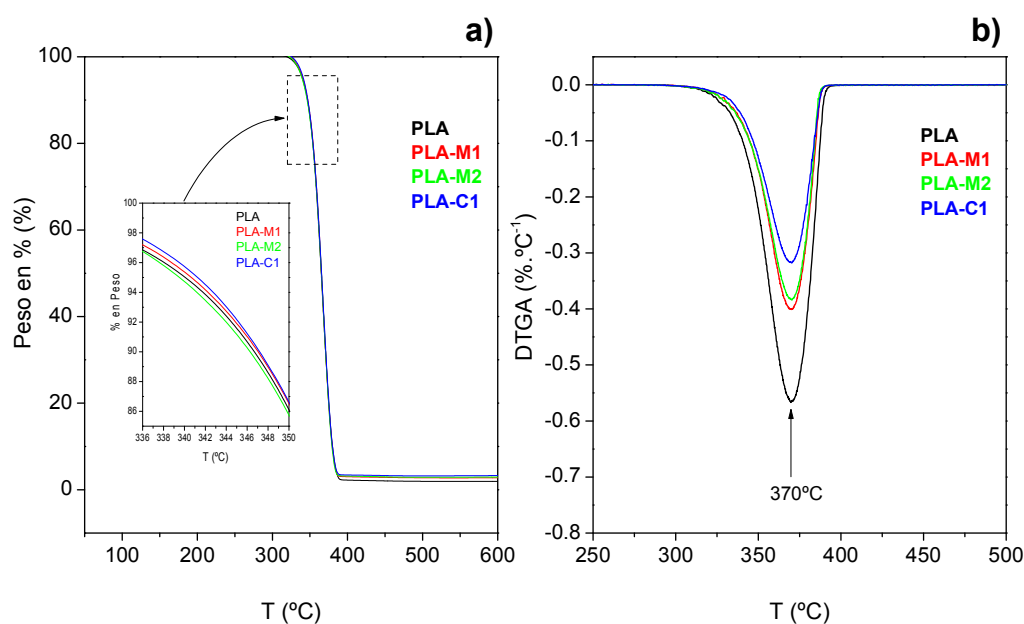


Figura 4.14.- Análisis termogravimétrico (TGA) de las muestras de PLA molidas en diferentes condiciones de procesado de a) curva de variación de porcentaje en peso con la temperatura y, b) DTGA - primera derivada del porcentaje peso con la temperatura.

En la Figura 4.15 (a) y (b) se muestra el porcentaje en peso en función de la temperatura y la primera derivada para los materiales nanocompuestos tanto en forma de polvo como de películas, respectivamente. Para facilitar las comparaciones, en ambas se ha añadido el resultado termogravimétrico asociado al PLA de partida (PLA). La T_5 , T_{95} y T_p para las muestras de materiales compuestos PLA/Caolín molidas en diferentes condiciones de temperaturas y tiempo de molienda presentaron valores menores que los encontrados para la muestra de PLA de partida. Según estos resultados se podría concluir que el PLA presenta una estabilidad térmica más alta que las muestras de materiales nanocompuestos.

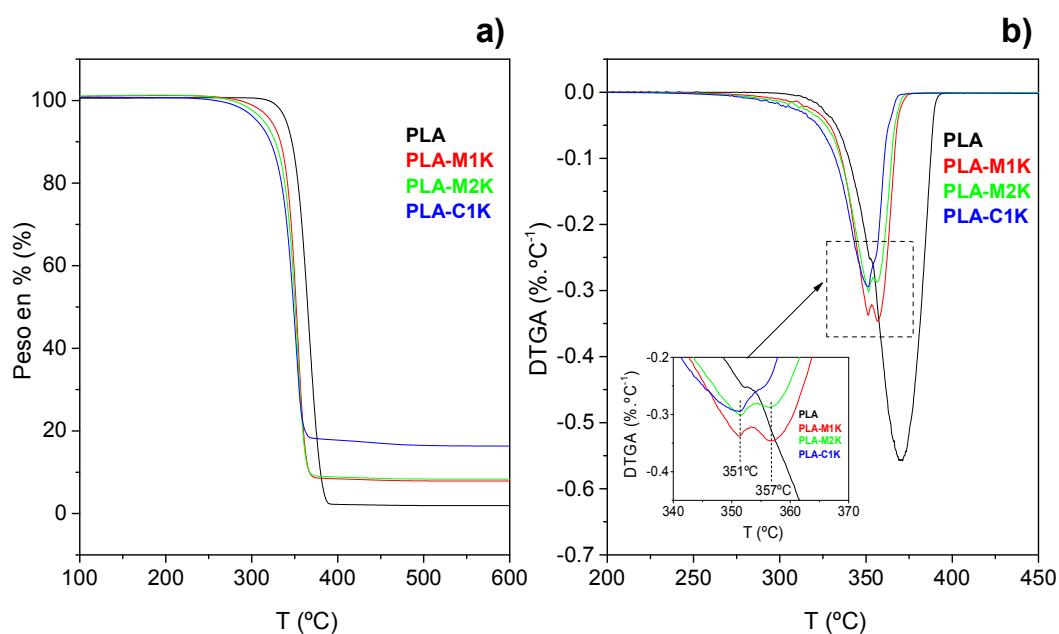


Figura 4.15.- Análisis termogravimétrico (TGA) de las muestras nanocompuestos de PLA de a) curva de variación de porcentaje en peso con la temperatura y, b) DTGA - primera derivada del porcentaje peso con la temperatura.

En la Figura 4.16 (a), para películas de nanocompuestos de PLA, se ilustran las típicas curvas termogravimétricas donde se representa cantidad relativa de material (en porcentaje en peso) frente a la temperatura y en la Figura 4.16 (b) el cambio de masa respecto a la temperatura (curva derivada, termogravimetría diferencial) en función de la temperatura. En ambas figuras se ha añadido el resultado asociado al PLA de partida en forma de película.

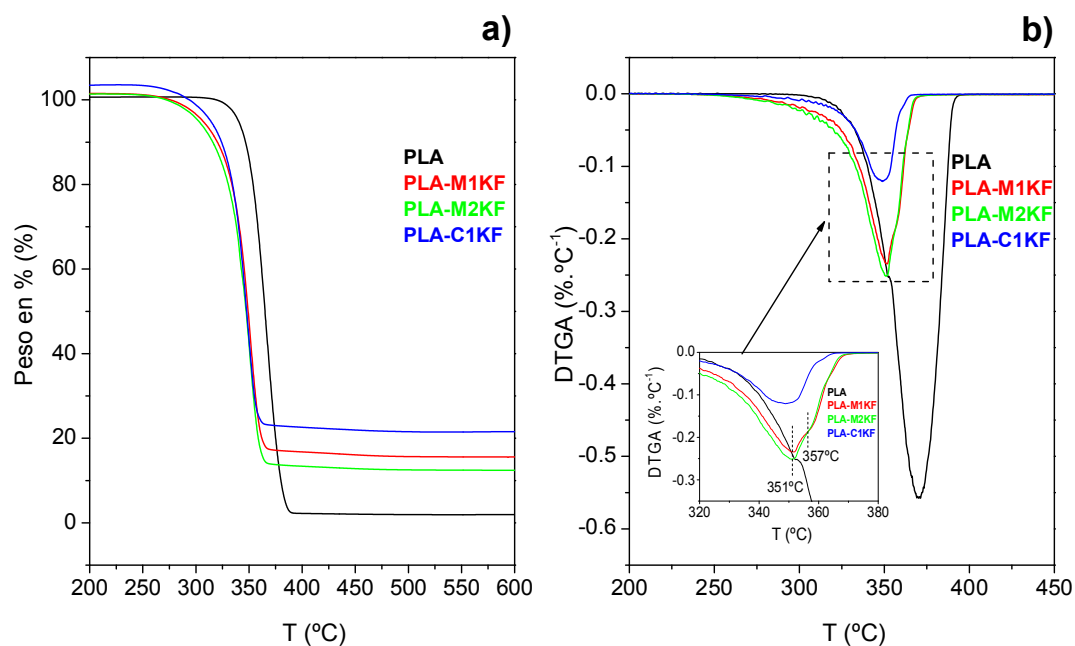


Figura 4.16.- Análisis termogravimétrico (TGA) de películas nanocompuestos de PLA de a) curva de variación de porcentaje en peso con la temperatura y, b) DTGA - primera derivada del porcentaje peso con la temperatura.

Tabla 4.6.- Temperaturas características de la descomposición térmica de las muestras con o sin caolín, determinadas por TGA.

Muestra	T ₅ (°C)	T ₉₅ (°C)	ΔT ₅₋₉₅ (°C)	T _p (°C)
PLA	337	392	55	370
PLA-M1	339	388	49	370
PLA-M2	339	388	49	371
PLA-C1	339	389	50	370
PLA-M1K	329	370	41	351/357
PLA-M2K	327	367	40	351/357
PLA-C1K	324	366	42	351
PLA-F	324	382	58	363
PLA-M1F	325	381	56	363
PLA-M2F	327	380	53	361
PLA-C1F	324	379	55	363
PLA-M1KF	324	368	44	351
PLA-M2KF	324	367	43	351
PLA-C1KF	324	361	37	349
K	425	551	126	496
K-M1	398	522	124	468
K-M2	352	488	136	438
K-C1	398	522	124	476

Comparativas:**PLA vs PLA/Caolín en forma de polvos**

Independientemente de las condiciones de procesado las muestras de PLA se degradan a una temperatura de 370 °C (PLA, PLA-M1, PLA-M2 y PLA-C1). Lo mismo ocurre con las muestras de PLA/Caolín, donde las condiciones de procesado no afectan a su temperatura de degradación, todas se degradan alrededor de los 351 °C (PLA-M1K, PLA-M2K y PLA-C1K). Vemos que la presencia del caolín, sí que afecta a la temperatura de degradación de las muestras.

PLA vs PLA/Caolín en forma de película

Independientemente de las condiciones de procesado las muestras de PLA se degradan a una temperatura de unos 363 °C (PLA-F, PLA-M1F, PLA-M2F y PLA-C1F). Se observa un ligero descenso de la temperatura de degradación con respecto a las muestras en forma de polvo (que era de unos 370 °C). Este descenso, se podría asociar al efecto del procesado para preparar las películas. En el caso de las muestras de PLA/Caolín, las condiciones de procesado no afectan a su temperatura de degradación, todas se degradan alrededor de los 351 °C (PLA-M1KF, PLA-M2KF y PLA-C1KF). En este caso no parece afectar la etapa de prensado en caliente, como así se ha observado en el caso de las muestras de PLA sin caolín.

Los resultados para las muestras de PLA con y sin caolín, mostraron que la degradación térmica se produjo entre 324 y 371 °C, que es un intervalo de temperatura relativamente estrecho ($\Delta T < 50$ °C) [18].

Por otra lado, para las muestras nanocompuestos de PLA molidas a 1 y 2 h (PLA-M1K y PLA-M2K) y en forma de películas (PLA-M1KF y PLA-M2KF) la temperatura máxima de degradación (T_p) mostraron dos picos, a 351 y 357 °C, respectivamente.

La degradación térmica del PLA es un proceso muy complejo debido a que pueden ocurrir varias reacciones de manera simultánea a temperaturas superiores a 200 °C. En particular estas reacciones son:



- i. Procesos de transesterificación intramolecular que conducen a la formación de lactida, que es el diéster cíclico del ácido láctico y otros oligómeros cíclicos.
- ii. Mecanismos de *cis*-eliminación que dan lugar a la formación de ácido acrílico y oligómeros acíclicos.
- iii. Reacciones de fragmentación que conducen a la presencia de acetaldehído y CO₂.

Por otro parte, a temperaturas superiores a los 270 °C pueden ocurrir reacciones de tipo radicalico. De esta manera, la degradación térmica del PLA produce la escisión de la cadena polimérica, con la consiguiente formación de oligómeros y un aumento del número de grupos terminales hidroxilo y carboxilo que, a su vez, promueven la descomposición térmica [19].

4.3.2.- Estudio de la respuesta de los materiales frente al desarrollo de biopelículas

Para realizar los estudios sobre proliferación de bacterias en función de la presencia de caolín se realizó una comparación entre el número de bacterias generadas en materiales control de PLA puro y un material nanocompuesto de PLA/Caolín. En este último caso, de todos los preparados, se eligió aquél que presentó la dispersión más uniforme de partículas, concretamente la muestra PLA-C1KF.

La Figura 4.17 muestra imágenes de altura obtenidas por microscopía de fuerza atómica, AFM, representativas de biopelículas desarrolladas en los materiales estudiados.

Se puede observar que la densidad de las colonias observadas (número de bacterias por unidad de superficie) aumenta en el siguiente orden en función del tipo de material: PLA-F, PLA-C1F y PLA-C1KF. Por lo tanto parece que el proceso de molienda es el factor que más afecta en el desarrollo de la biopelícula, incluso más que la presencia de caolín. Se observa que en las muestras molidas el crecimiento de colonias de bacterias se ve favorecido.

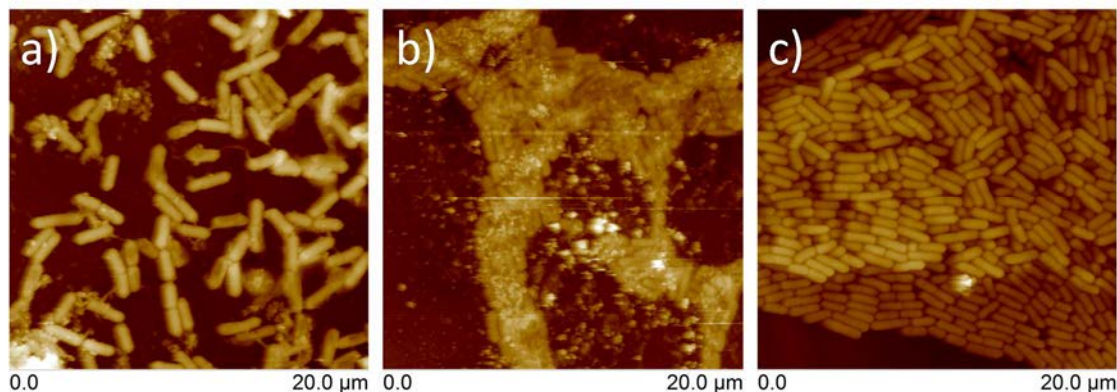


Figura 4.17.- Imágenes de altura de AFM para las muestras PLA-F, PLA-C1F y PLA-C1KF expuestas a cultivos de *Pseudomonas fluorescens*.

Por otro lado, los recuentos microbianos de las muestras se realizaron 24 h después de la incubación. El orden correspondiente al número de unidades formadoras de colonias por centímetro cuadrado (UFC/cm²) en función del tipo de material es el siguiente: PLA-F ($1,6 \times 10^3$ UFC/cm²); PLA-C1F ($3,2 \times 10^3$ UFC/cm²) y PLA-C1KF ($7,7 \times 10^3$ UFC/cm²). Este orden está totalmente de acuerdo con la cantidad de bacterias observadas en las imágenes de AFM.

Una posible explicación de estos resultados pueden ser las pequeñas diferencias observadas en la estructura del polímero. De hecho, tomando los resultados de rayos X y FTIR es posible ver que hay una correspondencia entre la estructura cristalina y la proliferación bacteriana. En general parece que cuando existe una estructura más ordenada hay una mayor proliferación bacteriana. Por tanto, los cambios en el desarrollo de biopelículas en este tipo de materiales pueden ser debidos a cambios en sus propiedades superficiales inducidas por las variaciones estructurales. Esto concordaría con una mejor adhesión de las bacterias (al menos las *Pseudomonas fluorescens* B52) al PLA cuanto más ordenada sea la estructura cristalina del PLA. Como conclusión final, siguiendo este último razonamiento, se podría esperar una disminución en la proliferación bacteriana en materiales de matriz de políácido láctico simplemente reduciendo el orden asociado a la estructura del polímero.



4.4.- Conclusiones parciales

✚ En este capítulo se ha estudiado el efecto del caolín en la matriz polimérica del PLA bajo diferentes condiciones de temperatura y tiempo de procesado.

✚ Se han caracterizado los materiales de partida y nanocompuestos obtenidos mediante la molienda de bolas de alta energía por difracción de rayos X, espectroscopía infrarroja, microscopía electrónica de barrido, microscopía de fuerza atómica, calorimetría diferencial de barrido y análisis termogravimétrico.

✚ La HEBM afecta la cristalinidad de las muestras, con una tendencia a disminuir con el tiempo y temperatura de molienda, sin embargo, la cristalinidad aumenta para las películas de las muestras estudiadas, esto puede deberse tanto a la fuerza aplicada para hacer las películas durante el calentamiento como a la molienda en condiciones criogénicas y presencia de caolín.

✚ Las fuerzas de cizalla aplicadas desde el proceso de molienda desintegra la estructura ordenada del caolín e induce el predominio de la estructura menos ordenada la fase α' en el PLA. Sin embargo, el proceso de prensado en caliente subsiguiente mejora la estructura más ordenada del PLA (fase α) que además, se ve favorecido con la molienda previa a mayores tiempos y en condiciones criogénicas. Por otro lado, las condiciones de molienda (tiempos más largos y temperaturas más bajas) dan una más uniforme dispersión de la arcilla, señalando un mayor grado de exfoliación del caolín.

✚ Según los datos observados por SEM, se puede concluir que parte de las arcillas tienen buenos niveles de dispersión, dado que los agregados de arcilla por encima del tamaño de micras no se observan en las muestras de superficie.

✚ En el difractograma de difracción de rayos X, los picos en 2θ que tienden a desaparecer en las muestras de caolín molidos a temperatura ambiente y en condiciones criogénicas, muestra que hay una pérdida de cristalinidad de las muestras estudiadas.

✚ Las temperaturas de transición vítrea no presentaron cambios significativos por lo cual la estabilidad térmica de los cristales no se vio afectada por la etapa del procesamiento.



✚ Por último, parece que los cambios en el desarrollo de biopelículas de *Pseudomonas fluorescens* en este tipo de materiales fueron hasta cierto punto influenciados por el estado del polímero , siendo las estructuras más ordenadas aquellas que otorgan una mejor adhesión y proliferación bacteriana.



REFERENCIAS

- [1] Castrillo PD, Olmos D, Amador DR, González-Benito J. Real dispersion of isolated fumed silica nanoparticles in highly filled PMMA prepared by high energy ball milling. *J Colloid Interface Sci* 2007;308:318–24. doi:10.1016/j.jcis.2007.01.022.
- [2] Olmos D, Domínguez C, Castrillo PD, Gonzalez-Benito J. Crystallization and final morphology of HDPE: effect of the high energy ball milling and the presence of TiO₂ nanoparticles. *Polymer (Guildf)* 2009;50:1732–42. doi:10.1016/j.polymer.2009.02.011.
- [3] Castrillo Sánchez PD. Preparación, caracterización y análisis de materiales nanocompuestos basados en sistemas epoxi-caolín. Universidad Carlos III de Madrid, 2010.
- [4] Richardson BC, Te Whaiti IE. Partial characterization of heat-stable extracellular proteases of some psychrotrophic bacteria from raw milk. *NZ J Dairy Sci Technol* 1978;13:172–6.
- [5] Csóka L, Božanić DK, Nagy V, Dimitrijević-Branković S, Luyt AS, Grozdits G, et al. Viscoelastic properties and antimicrobial activity of cellulose fiber sheets impregnated with Ag nanoparticles. *Carbohydr Polym* 2012;90:1139–46. doi:10.1016/j.carbpol.2012.06.065.
- [6] Konsomboon S, Pipatmanomai S, Madhiyanon T, Tia S. Effect of kaolin addition on ash characteristics of palm empty fruit bunch (EFB) upon combustion. *Appl Energy* 2011;88:298–305. doi:10.1016/j.apenergy.2010.07.008.
- [7] Melo JDD, de Carvalho Costa TC, de Medeiros AM, Paskocimas CA. Effects of thermal and chemical treatments on physical properties of kaolinite. *Ceram Int* 2010;36:33–8. doi:10.1016/j.ceramint.2009.06.017.
- [8] Pan P, Zhu B, Kai W, Dong T, Inoue Y. Polymorphic transition in disordered poly(L-lactide) crystals induced by annealing at elevated temperatures. *Macromolecules* 2008;41:4296–304. doi:10.1021/ma800343g.
- [9] Matusik J, Kłapyta Z, Olejniczak Z. NMR and IR study of kaolinite intercalation compounds with benzylalkylammonium chlorides. *Appl Clay Sci* 2013;83-84:426–32. doi:10.1016/j.clay.2013.07.008.
- [10] Farmer VC. Differing effects of particle size and shape in the infrared and Raman

- spectra of kaolinite. *Clay Miner* 1998;33:601–4.
doi:10.1180/claymin.1998.033.4.07.
- [11] Frost RL, Makó É, Kristóf J, Klopogge JT. Modification of kaolinite surfaces through mechanochemical treatment - a mid-IR and near-IR spectroscopic study. *Spectrochim Acta - Part A Mol Biomol Spectrosc* 2002;58:2849–59. doi:10.1016/S1386-1425(02)00033-1.
- [12] Fukushima K, Abbate C, Tabuani D, Gennari M, Camino G. Biodegradation of poly(lactic acid) and its nanocomposites. *Polym Degrad Stab* 2009;94:1646–55. doi:10.1016/j.polymdegradstab.2009.07.001.
- [13] Onyari JM, Mulaa F, Muia J, Shiundu P. Biodegradability of poly (lactic acid), preparation and characterization of PLA/gum arabic blends. *J Polym Environ* 2008;16:205–12. doi:10.1007/s10924-008-0096-5.
- [14] Papageorgiou GZ, Achilias DS, Nanaki S, Beslikas T, Bikiaris D. PLA nanocomposites: Effect of filler type on non-isothermal crystallization. *Thermochim Acta* 2010;511:129–39. doi:10.1016/j.tca.2010.08.004.
- [15] Solarski S, Ferreira M, Devaux E. Characterization of the thermal properties of PLA fibers by modulated differential scanning calorimetry. *Polymer (Guildf)* 2005;46:11187–92. doi:10.1016/j.polymer.2005.10.027.
- [16] Fukushima K, Tabuani D, Camino G. Nanocomposites of PLA and PCL based on montmorillonite and sepiolite. *Mater Sci Eng C* 2009;29:1433–41. doi:10.1016/j.msec.2008.11.005.
- [17] Frost RL, Mako E, Kristof J, Horvath E, Klopogge JT. Mechanochemical treatment of kaolinite. *J Colloid Interface Sci* 2001;239:458–66. doi:10.1006/jcis.2001.7591.
- [18] Carrasco F, Pagès P, Gámez-Pérez J, Santana OO, Maspoch ML. Processing of poly(lactic acid): Characterization of chemical structure, thermal stability and mechanical properties. *Polym Degrad Stab* 2010;95:116–25. doi:10.1016/j.polymdegradstab.2009.11.045.
- [19] Kopinke F-D, Remmler M, Mackenzie K, Moder M, Wachsen O. Thermal decomposition of biodegradable polyesters -II. Poly (lactic acid). *Polym Degrad Stab* 1996;53:329–42. doi:s0141-3910(96)00102-4.

Capítulo 5

Sistema PLA/TiO₂: Propiedades y comportamiento en servicio

5.1	Introducción	5-3
5.2	Parte experimental.....	5-6
5.2.1	Preparación de muestras.....	5-6
5.2.2	Métodos y técnicas instrumentales	5-9
5.2.2.1	Actividad microbiana	5-10
5.3	Resultados y discusión	5-14
5.3.1	Caracterización estructural de materiales PLA/TiO ₂	5-14
5.3.2	Caracterización térmica	5-18
5.3.3	Caracterización mecánica	5-25
5.3.4	Estudio del comportamiento bacteriano	5-30
5.4	Conclusiones parciales	5-41
	REFERENCIAS	5-43



5.1.- Introducción

Los materiales nanocompuestos basados en biopolímeros son un tipo de materiales compuestos obtenidos a partir de nanopartículas de distinta naturaleza dispersas en matrices poliméricas que son biodegradables. Este tipo de materiales han resultado de gran interés en los últimos años por la mejora en las propiedades generales de los nuevos materiales en relación a las del polímero puro. En la actualidad la mayoría de los investigadores aceptan que las propiedades finales de los nanocompuestos dependen enormemente de la dispersión de las nanopartículas dentro de la matriz polimérica. Por ejemplo, se ha visto que en general si las nanopartículas están bien dispersadas en un polímero (dispersión uniforme) es posible mejorar sus propiedades mecánicas, la permeabilidad a los gases, la resistencia química, e incluso mantener unas buenas propiedades ópticas de transparencia y brillo [1,2]. Hasta el momento, se han hecho grandes esfuerzos para mejorar la compatibilidad entre distintos nanorellenos y polímeros con el fin de conseguir una buena dispersión de las nanopartículas [2]. No obstante, el éxito en este sentido ha sido bastante limitado. En general, se han empleado un gran número de métodos de procesamiento para preparar nanocompuestos intentando conseguir dispersiones uniformes de partículas para altos contenidos de las mismas, como por ejemplo: i) extrusión; ii) moldeo por compresión; iii) molienda de bolas de alta energía, HEBM, iv) disolviendo el polímero en disolventes adecuados para preparar suspensiones de partículas y después obtener los materiales nanocompuestos a partir de la evaporación del disolvente (método de “casting”) [3,4]. En concreto, en este trabajo el método “casting” ha sido el elegido para finalmente obtener películas finas de materiales compuestos mediante presando en caliente.

El ácido poliláctico (PLA), $(-[\text{CH}(\text{CH}_3)\text{COO}]_n-)$, es un material bastante atractivo y favorable al medio ambiente que se ha utilizado ampliamente para producir materiales biocompatibles como los implantes, fibras, películas, piezas de plásticos, etc., sin embargo, sus principales limitaciones en algunas aplicaciones industriales son causadas por sus bajas propiedades mecánicas, su relativamente alta permeabilidad a los gases [5,6] y la falta de propiedades con efecto bactericida. La modificación de los materiales

con nanorelentos puede ser una vía para aportar propiedades antimicrobianas pudiendo ser un modo eficiente en la prevención del desarrollo de biopelículas [7]. Gracias a su biodegradabilidad el PLA puede sustituir a polímeros no degradables en numerosas aplicaciones mejorando sus prestaciones al menos en relación al impacto medioambiental. Entre otras aplicaciones cabría destacar, bolsas de desechos de jardín, envases de alimentos, films para invernaderos, etc. Sin embargo, la relativamente alta velocidad de degradación hidrolítica (desfavorable) y su deterioro por la acción de la luz ultravioleta, UV, a menudo limita la aplicación del PLA. Particularmente, en el caso de materiales basados en PLA, la modificación del polímero mediante la incorporación de nanopartículas con propiedades antibacterianas podría ser una buena opción para el desarrollo de materiales con efectos antimicrobianos y que podrían utilizarse en el envasado o empaquetado de alimentos.

Para evitar o reducir la posible degradación del PLA, una opción podría ser la adición de aditivos tales como el TiO₂, pues el óxido de titanio entre otras propiedades es capaz de absorber en gran medida radiación UV. Además, la incorporación de las nanopartículas podría ser una herramienta eficaz para además de modificar ciertas propiedades del polímero inhibir los procesos de degradación en diversos medios.

El dióxido de titanio, TiO₂, es un material que por la acción de la luz puede dar lugar a la transición de un electrón a la banda de conducción favoreciendo la capacidad oxidativa de otras especies por formación de agentes activos como radicales. Teniendo en cuenta que las bacterias sometidas a un estrés oxidativo desencadenan un mecanismo de autodestrucción, se podría concluir que el TiO₂ puede ser un material con propiedades bactericidas reforzadas por la presencia de la luz. Diversos estudios han demostrado las propiedades bactericidas de TiO₂ [8–13] y que su biocompatibilidad y pequeño tamaño cuando se presenta en forma de nanopartículas mejoran el efecto catalítico de estos materiales [14–17], a la vez, tienen un gran potencial para aplicaciones tales como la purificación del medio ambiente, la descomposición del gas ácido carbónico y la generación de gas hidrógeno, entre otras. Se aplica principalmente como pigmento, adsorbentes, soporte de catalizadores, filtros, revestimientos y material dieléctrico. Por



otra parte, debido a su acción bacteriostática, el TiO₂ también es útil frente a la inhibición de olores y como sistema de auto-limpieza de determinadas superficies. Tales ventajas hacen del TiO₂ un componente de refuerzo inorgánico ideal en la fabricación de materiales nanocompuestos resistentes a la radiación UV, probablemente a la degradación térmica y a la inhibición del desarrollo de biofilms perjudiciales [8,13]. Por lo tanto, parece razonable pensar que en nanocompuestos la adición de nanopartículas de TiO₂ debe proporcionar al material final algunas de sus propiedades funcionales del TiO₂ tales como la protección contra la radiación UV y la acción bactericida.

El TiO₂ es conocido en tres fases, anatasa, rutilo y brookita [18]. Sin embargo, existe principalmente en las fases rutilo y anatasa, ambas en estructura tetragonal. La fase anatasa se forma a bajas temperaturas con una separación entre banda de valencia y la de conducción (gap de energía) de 3,2 eV (380 nm en términos de radiación electromagnética necesaria para conseguir el correspondiente tránsito electrónico entre bandas) y un índice de refracción de 2,3. Por otro lado, la fase rutilo es una fase estable a altas temperaturas y tiene un gap energético 3,0 eV (415 nm) [19]. En la mayoría de los casos, el tamaño de las partículas es un factor importante que afecta al comportamiento de estos materiales, es decir, influyen en las propiedades físicas del material [20].

En este estudio se utilizó para preparar los materiales un “casting” de una suspensión de nanopartículas de TiO₂ en una disolución del PLA en diclorometano (CH₂Cl₂) y posterior prensado en caliente. De esta manera se pretende dispersar uniformemente las nanopartículas de TiO₂ en la matriz de ácido poliláctico (PLA). Una vez preparados los materiales se realizará una caracterización de los mismos y un estudio profundo para evaluar el efecto de la presencia y tamaño de las nanopartículas en las propiedades finales de los materiales.

Dichas propiedades pueden verse fuertemente influenciadas, en especial las propiedades mecánicas debido al tamaño de las partículas, limitando el movimiento de las macromoléculas por efectos de confinamiento y a su vez restringiendo la capacidad

de deformación del material plástico reduciendo su ductilidad cuando el tamaño de las partículas es menor. Esto se traduce en un aumento en el límite elástico y la resistencia del material [21]. Estos efectos de confinamiento pueden dar lugar a una región interfacial en la que las propiedades de la matriz polimérica se vean influidas por la presencia de una superficie extremadamente rígida. Son muchos los estudios realizados sobre el efecto real del tamaño de las partículas sobre las propiedades finales de materiales compuestos de matriz polimérica. En general se considera que si es precisamente la región interfacial la causante de dichas modificaciones cuanta más fracción de dicha región mayor será el efecto. Pero es evidente que para una misma cantidad de partículas aquellas que poseen menor tamaño deben dar lugar a más superficie en contacto con la matriz polimérica y por tanto a más región interfacial. Este argumento se encuentra muy bien explicado en un reciente artículo publicado por J. González-Benito y colaboradores en el que se estudia la influencia del tamaño de partículas de TiO₂ en el coeficiente de expansión térmica en materiales nanocompuestos con matriz de poli(etileno-co-vinilacetato) [22].

En particular, se estudió la estructura y la morfología de las películas mediante XRD, FTIR-ATR y SEM respectivamente para realizar una correlación con las propiedades mecánicas (ensayos de tracción) y térmicas (calorimetría diferencial de barrido y termogravimetría). Además, los datos recopilados se utilizarán para entender la actividad o capacidad antibacteriana frente a la cepa seleccionada, en concreto de la bacteria *E. coli* (DH5 α TM).

5.2.- Parte experimental

5.2.1.- Preparación de muestras

Como materiales de relleno se seleccionaron nanopartículas de TiO₂ con dos tamaños de partícula: de 21 nm y <100 nm de diámetro, respectivamente. Los materiales nanocompuestos de PLA/TiO₂ se prepararon con distintas composiciones: 0%, 1%, 5%, 10% y 20% en peso de nanopartículas de TiO₂. La masa total utilizada para la elaboración de las películas fue de 2,0 g.



Para la preparación de las películas se siguieron los siguientes pasos:

- a) El PLA de partida se disolvió en diclorometano (10 ml) a temperatura ambiente ($\sim 22\text{ }^{\circ}\text{C}$) y se mantuvo en reposo durante 30 min para que el PLA absorbiese el disolvente, luego se agitó a 560 rpm durante 1 h hasta su completa disolución.
- b) Por otro lado, se mezclaron las nanopartículas de TiO₂ con diclorometano (10 ml) y colocaron en baño de ultrasonidos durante 30 min con el fin de promover la separación y dispersión de las partículas generando una suspensión homogénea.
- c) Seguidamente y dentro de una campana de flujo de aire, se agregó la disolución de PLA a la suspensión con nanopartículas de TiO₂ y posteriormente el conjunto se agitó a 560 rpm durante 1 h.
- d) En una placa Petri de $\varnothing = 60\text{ mm}$, se vertió la suspensión PLA/Cl₂CH₂/TiO₂ dejándose en reposo dentro de la campana durante 1 h para evaporar el Cl₂CH₂ (“casting”) y así obtener una pre-película de material nanocompuesto (Figura 5.1).
- e) Posteriormente, la pre-película obtenida se introdujo en un horno a $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 24 h con el fin de evaporar todo residuo remanente del disolvente.
- f) Finalmente, las pre-películas se colocaron entre láminas de kapton en una prensa de platos calientes FONTIJNE PRESSES modelo TP400 y se aplicó una presión de 30 kN a $160\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 10 min. Según se indica en las especificaciones del PLA comercial (ver anexo 1), se fijó la temperatura en $160\text{ }^{\circ}\text{C}$ por ser suficiente para fundir el polímero y no provocar su degradación.



Figura 5.1.- Ejemplo de pre-película de PLA/TiO₂.

Las películas preparadas se almacenaron en un desecador para evitar la absorción de humedad. La Figura 5.2 corresponde a una fotografía en la que se muestra un ejemplo de las películas preparadas en este apartado con diferentes porcentajes de relleno.

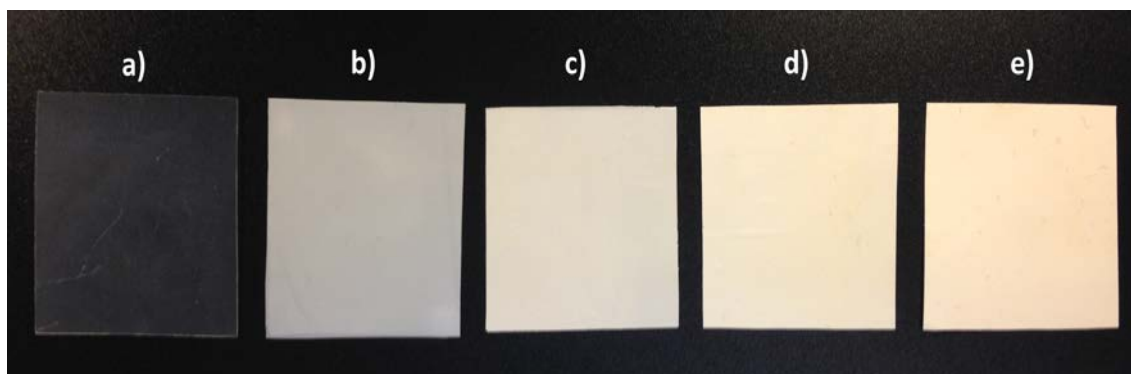


Figura 5.2.- Películas de PLA de 10 x 10 cm rellenas con diferentes contenidos de nanopartículas de TiO₂: a) 0%, b) 1%, c) 5%, d) 10% y e) 20% en peso.

En la Tabla 5.1 se muestra el espesor promedio de cada una de las películas de este grupo de muestras estudiadas. Para cada muestra se realizaron medidas en 5 puntos distintos sobre 3 películas preparadas. El valor medio del espesor de las películas se calculó en aproximadamente 190 μm . La película de PLA sin relleno se utilizó como muestra de referencia, descrita como PLA-0.

Tabla 5.1.- Espesor de las películas de PLA de partida y nanocompuestos de PLA/TiO₂.

Códigos de muestras	Espesor de Película (μm)	Códigos de muestras	Espesor de Película (μm)
PLA/TiO ₂ -21-1	203,4 \pm 32,3	PLATiO ₂ -100-1	189,9 \pm 18,0
PLA/TiO ₂ -21-5	196,4 \pm 11,3	PLA/TiO ₂ -100-5	192,4 \pm 13,5
PLA/TiO ₂ -21-10	194,6 \pm 11,4	PLA/TiO ₂ -100-10	187,4 \pm 11,7
PLA/TiO ₂ -21-20	204,8 \pm 12,7	PLA/TiO ₂ -100-20	202,9 \pm 20,0
PLA-0	186,2 \pm 23,8		



En la Tabla 5.2 se recogen todos los materiales preparados y estudiados junto con sus códigos o nombres abreviados y otros datos de interés: ácido poliláctico (PLA); dióxido de titanio (TiO₂); tamaño de partícula 100 nm (100); tamaño de partícula 21 nm (21); % de relleno de nanopartículas (0, 1, 5, 10 y 20).

Tabla 5.2.- Códigos, porcentajes de relleno y condiciones de preparación de las películas estudiadas.

Códigos de muestras	Método "Casting"	TiO ₂ (% wt)	Tamaño de partículas de TiO ₂ (nm)	Película (prensado caliente)
PLA-0	Sí (22 °C , 2 h)	0	NO	Sí (160 °C, 10 min)
PLA/TiO ₂ -21-1	Sí (22 °C , 2 h)	1	21	Sí (160 °C, 10 min)
PLA/TiO ₂ -21-5	Sí (22 °C , 2 h)	5	21	Sí (160 °C, 10 min)
PLA/TiO ₂ -21-10	Sí (22 °C , 2 h)	10	21	Sí (160 °C, 10 min)
PLA/TiO ₂ -21-20	Sí (22 °C , 2 h)	20	21	Sí (160 °C, 10 min)
PLA/TiO ₂ -100-1	Sí (22 °C , 2 h)	1	<100	Sí (160 °C, 10 min)
PLA/TiO ₂ -100-5	Sí (22 °C , 2 h)	5	<100	Sí (160 °C, 10 min)
PLA/TiO ₂ -100-10	Sí (22 °C , 2 h)	10	<100	Sí (160 °C, 10 min)
PLA/TiO ₂ -100-20	Sí (22 °C , 2 h)	20	<100	Sí (160 °C, 10 min)
TiO ₂ -21	NO	-	21	NO
TiO ₂ -100	NO	-	<100	NO

5.2.2.- Métodos y técnicas instrumentales

Las condiciones de medida de las técnicas instrumentales utilizadas en esta sección, ya fueron descritas en el Capítulo 3.

Para la caracterización estructural y morfológica se utilizó la difracción de rayos X, XRD, espectroscopia infrarroja mediante reflectancia total atenuada, ATR-FTIR, y microscopia electrónica de barrido, SEM. El análisis térmico se llevó a cabo mediante termogravimetría, TGA, y calorimetría diferencial de barrido, DSC.

Además se realizó un estudio de propiedades mecánicas mediante la realización de ensayos de tracción de las películas de PLA y PLA/TiO₂ con porcentajes de relleno de 0, 1, 5 y 10% en peso. El ensayo de tracción correspondiente a los materiales con un 20% en peso de nanopartículas no se realizó debido a su gran fragilidad. En la Figura 5.3 se ilustran las imágenes a modo de ejemplo de algunas de las probetas ensayadas con diferentes porcentajes de relleno y tamaños de partículas, siguiendo la norma y dimensiones descritas en el apartado 3.1.6.1 del capítulo 3. Se puede observar al igual que en las películas de partida cómo a medida que aumenta el porcentaje de partículas las probetas se tornan blancas y cada vez más opacas.

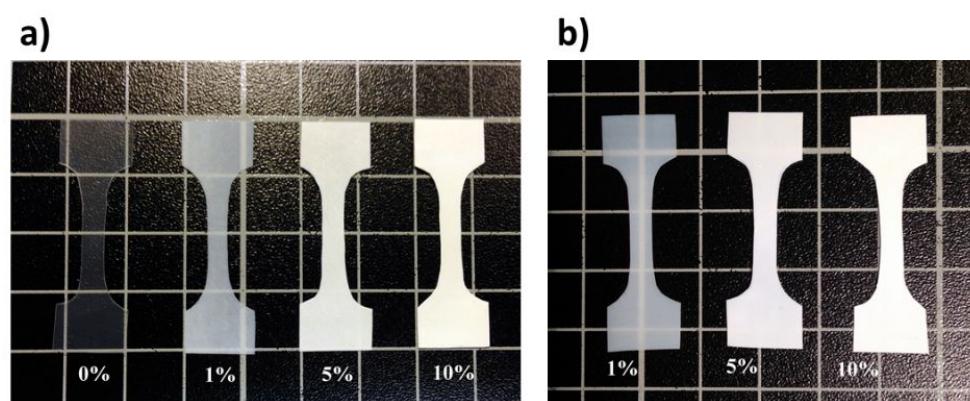


Figura 5.3.- Imágenes de probetas de tracción de PLA y materiales nanocompuestos PLA/TiO₂ con diferentes porcentajes de relleno: a) tamaño de partículas < 100 nm y b) tamaño de partículas 21 nm.

5.2.2.1.- Actividad microbiana

Método de Kirby Bauer

El método utilizado con mayor frecuencia para evaluar la sensibilidad de las bacterias a los agentes antimicrobianos es la denominada prueba de difusión del disco. Esta técnica fue estandarizada por Kirby y Bauer en 1966 [23,24], de allí que dicho método también se le conozca con el nombre de “prueba de Kirby-Bauer”. Es un método sencillo y fácil de realizar en los laboratorios de rutina que sólo da información cualitativa o semicuantitativa sobre la sensibilidad de un microorganismo a un antibiótico



determinado. Sin embargo, los resultados obtenidos son de gran valor clínico para iniciar, mantener o modificar una antibioticoterapia.

A principios de los años 50 la mayoría de los laboratorios de microbiología de Los Estados Unidos de América adoptaron el método de difusión de disco para determinar la susceptibilidad de bacterias ante agentes antimicrobianos. Cada laboratorio modificaba el procedimiento en función de sus necesidades, entre otras estas modificaciones incluían tipos de medio, concentración de inóculo, tiempo de incubación, temperatura de incubación y concentración de compuesto antimicrobiano. La interpretación de la susceptibilidad y resistencia se basa simplemente en la presencia o ausencia de una zona de inhibición alrededor del disco utilizando al menos dos o tres concentraciones diferentes del mismo antimicrobiano frente al patógeno en cuestión.

En el método de Kyrbi y Bauer original se emplea un papel de filtro impregnado en agente antimicrobiano y por este motivo el método debe adaptarse a las peculiaridades del trabajo de investigación que nos ocupa. En este caso lo que ese estudia es el carácter antimicrobiano de un material en particular por lo que dicho material en sí sustituirá al convencional disco de celulosa. El resto del procedimiento a seguir será similar.

En el caso que nos ocupa se recortaron del material a ensayar (en forma de films) cuadraditos de aproximadamente 10 mm de lado. Dichos cuadraditos se colocan sobre placa con agar Luria Bertani. Si el agar se inocula con una suspensión de las bacterias antes de colocar los cuadraditos, el crecimiento de las bacterias y la posible acción bactericida procedente de los cuadraditos ocurrirá simultáneamente.

Procedimiento

En este apartado, para el estudio de la proliferación bacteriana se utilizó la bacteria *Escherichia coli* (DH5 α TM).

1. **Cepa bacteriana a estudiar:** Debe provenir de un cultivo fresco, preferiblemente de un cultivo en agar, de manera que podamos comprobar la pureza de la cepa.
2. **Inóculo:** Primeramente, se descongeló una alícuota de la bacteria DH5 α TM [25]. Seguidamente, en ambiente estéril se mezclaron en un tubo falcón 100 μ l de DH5 α TM con 900 μ l de medio Luria Bertani (LB) y se procedió a su incubación durante 1 h a 200 rpm y 37 °C.
3. Transcurrido el tiempo, se inoculará 200 μ l en tres o cuatro direcciones toda la superficie de una placa con agar Luria Bertani (agar-LB), girando sucesivamente dicha placa en ángulos de 90°. Se deja secar el inóculo a temperatura ambiente durante algunos minutos (no más de 10 minutos).
4. Se colocarán con una pinza estéril hasta un máximo de 5 cuadraditos de los materiales a estudiar (4 materiales compuestos de PLA con 1%, 5%, 10% y 20% respectivamente de nanopartículas de TiO₂ y 1 control de PLA puro) de forma aproximadamente equidistante, presionándolos suavemente contra la superficie de agar (Figura 5.4).
5. Por otra parte y previo al crecimiento de las bacterias, se procedió a la desinfección de las películas para evitar su contaminación. Dicha desinfección se realizó de la siguiente manera: los materiales en forma de películas con áreas de aproximadamente 1,0 cm² se colocaron dentro de una cabina de flujo laminar, se rociaron con etanol al 70 % en peso, (EtOH 70%) y se esperó hasta su secado.

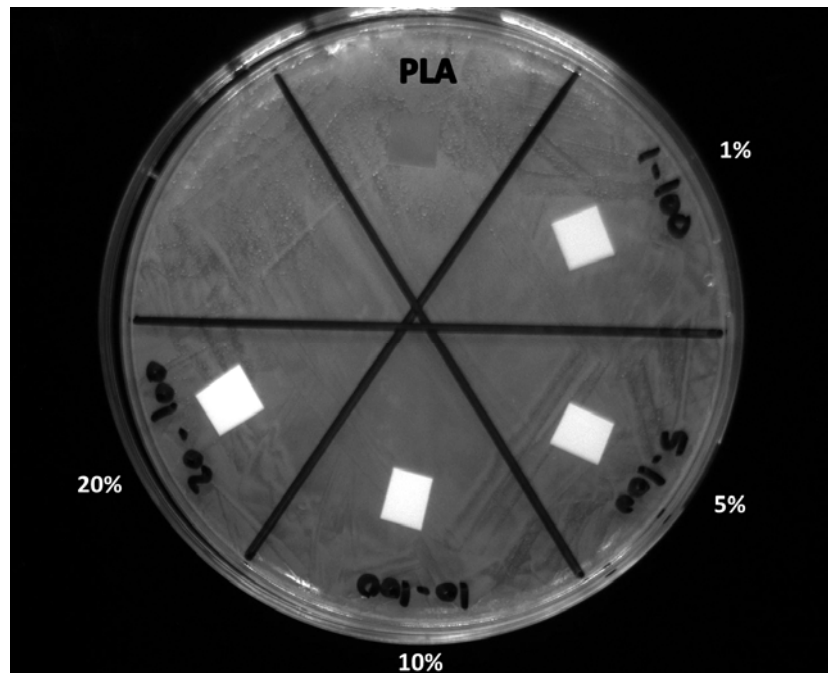


Figura 5.4.- Ejemplo de crecimiento de bacteria DH5α™ mediante el método de Kirby Bauer en películas de PLA (control) y nanocompuestos de PLA a 1%, 5%, 10% y 20% de TiO₂.

6. A continuación, se colocaran las placas a 37 °C, durante toda la noche.
7. **Lectura:** Se realizará después de 18 horas de incubación. Con un microscopio SZ-CTV Olympus y utilizando una cámara Olympus SC20 acoplada al mismo se realizaron fotografías de regiones en las que se visualizaba con claridad los bordes de los cuadraditos de los materiales. De esta manera y con una calibración adecuada utilizando un programa de análisis de imágenes “analySIS FIVE” se pudieron realizar medidas de la distancia entre el borde de los materiales y el biofilm generado por las bacterias tras la correspondiente incubación. Se realizaron un total de 10 medidas a lo largo de las interfases fotografiadas para posteriormente obtener un valor promedio y un error asociado a la desviación estándar de las medidas. En la Figura 5.5 se muestra un ejemplo de una fotografía donde se muestra la región del material, la región de biofilm de bacterias y la región de agar donde las bacterias no han crecido.

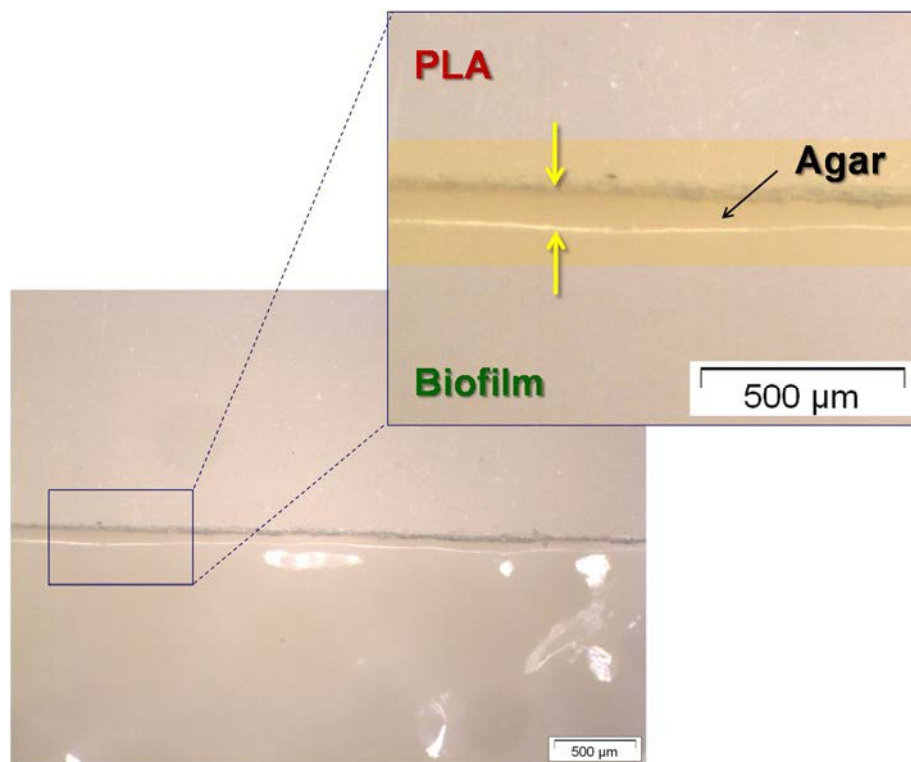


Figura 5.5.- Ejemplo de una fotografía donde se muestra la región de PLA puro, la región de biofilm de bacterias y la región de agar donde las bacterias no han crecido.

5.3.- Resultados y discusión

5.3.1.- Caracterización estructural de materiales PLA/TiO₂

En este apartado se discutirán los resultados de la caracterización de los compuestos obtenidos. Las Figuras 5.6 y 5.7 muestran una comparación entre los difractogramas de rayos X de películas de PLA rellenas con nanopartículas de TiO₂ de tamaños de partículas de 100 y 21 nm, respectivamente y los de películas material de partida, PLA-0.

En ambas Figuras (5.6 y 5.7), se observaron los picos característicos del PLA-0 y del TiO₂ respectivamente. Los picos cristalinos en los materiales nanocompuestos asociados al PLA aparecen en el intervalo de ángulos de difracción $2\theta = 15-25^\circ$, a medida que aumenta el porcentaje de relleno de nanopartículas en la matriz polimérica se puede observar la aparición de los picos pertenecientes al TiO₂.



Los picos asociados al TiO₂ no muestran la presencia de brookita pues no aparece el pico característico de la misma a $2\theta = 30,8^\circ$ asociado a los planos (1 2 1) [26].

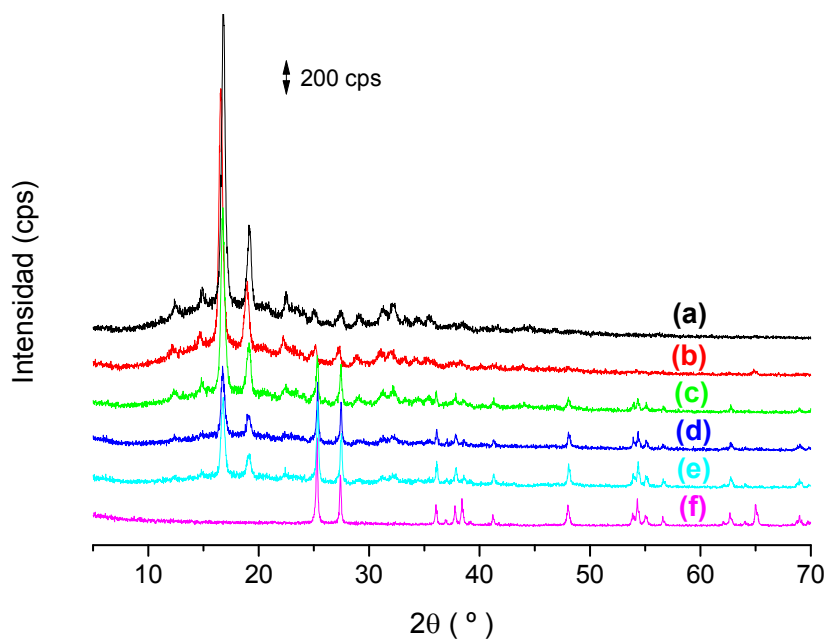


Figura 5.6.- Difractogramas de rayos X de: a) PLA-0; b) PLA/TiO₂-100-1; c) PLA/TiO₂-100-5; d) PLA/TiO₂-100-10; e) PLA/TiO₂-100-20 y; f) TiO₂-100.

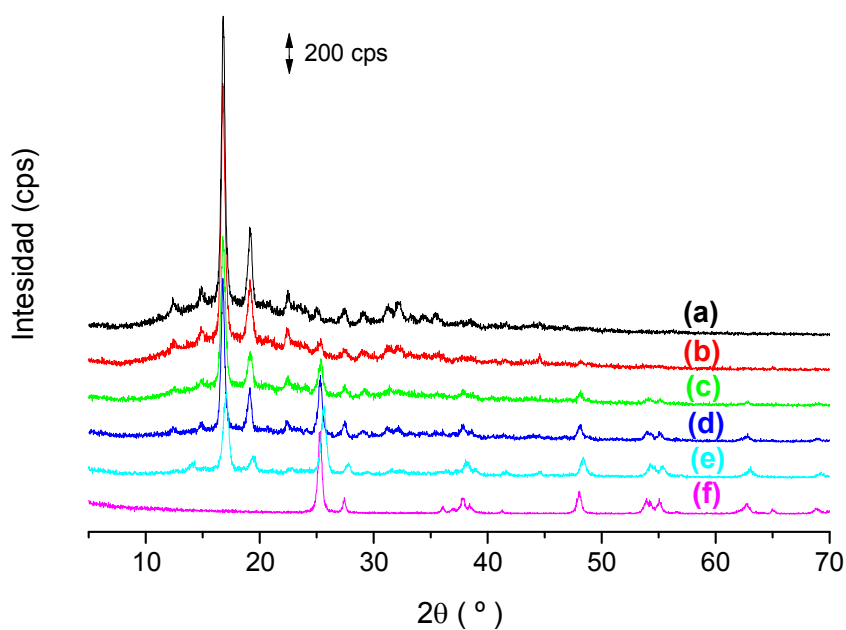


Figura 5.7.- Difractogramas de rayos X de: a) PLA-0; b) PLA/TiO₂-21-1; c) PLA/TiO₂-21-5; d) PLA/TiO₂-21-10; e) PLATiO₂-21-20 y; f) TiO₂-21.

Por otra parte, la Tabla 5.3 muestra los valores de cristalinidad obtenidos mediante la utilización de la ecuación 3.1 descrita en el capítulo 3 para el PLA y TiO₂ obtenida de los difractogramas de rayos X de las muestras estudiadas en este apartado. La cristalinidad del PLA en las muestras nanocompuestas se determinó sin considerar la contribución de las partículas.

Tabla 5.3.- Porcentaje de cristalinidad de las muestras de PLA, TiO₂ y nanocompuestos de PLA/TiO₂.

Muestras	XRD w _c (%)	Muestras	XRD w _c (%)
PLA-0	26,6		
PLA/TiO ₂ -21-1	25,9	PLATiO ₂ -100-1	25,8
PLA/TiO ₂ -21-5	21,7	PLA/TiO ₂ -100-5	22,0
PLA/TiO ₂ -21-10	21,0	PLA/TiO ₂ -100-10	11,7
PLA/TiO ₂ -21-20	16,5	PLA/TiO ₂ -100-20	12,6
TiO ₂ -21	27,3	TiO ₂ -100	25,3

Para los materiales nanocompuestos PLA/TiO₂ la cristalinidad del PLA disminuye a medida que aumenta el contenido de partículas si se compara con las muestras de PLA-0 y TiO₂, siendo ligeramente menor para las muestras con tamaño de partículas mayor (~ 100 nm). Se debe tener en consideración que la cristalinidad depende en gran medida de la preparación y de la técnica de caracterización.

La Figura 5.8 muestra los espectros ATR-FTIR (infrarrojo medio) del PLA-0 y de los materiales nanocompuestos de PLA/TiO₂ para diferentes porcentajes de relleno y dos tamaños de nanopartículas.

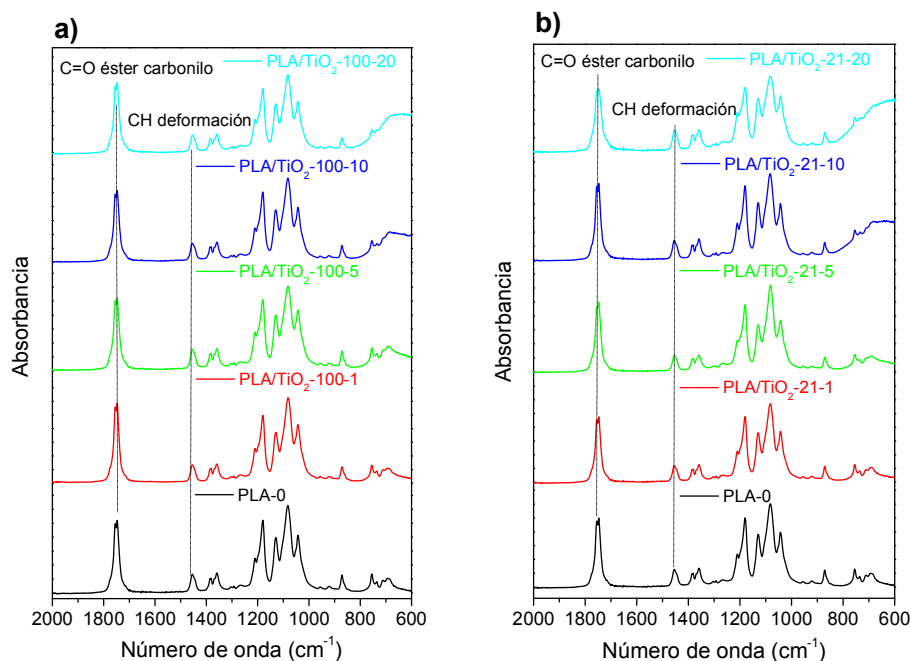


Figura 5.8.- Espectros ATR-FTIR para los materiales nanocompuestos de PLA/TiO₂ bajo estudio: a) diámetro medio de nanopartículas <100 nm y b) diámetro medio de nanopartículas 21 nm.

En la región entre 600 and 800 cm⁻¹ se puede observar cómo los espectros muestran mayor absorbancia debido a la contribución de las bandas de absorción de vibraciones de tensión de Ti-O y Ti-O-Ti del TiO₂ [27–29]. Se observa cómo la absorbancia de estas bandas aumenta a medida que se incrementa el porcentaje de TiO₂ en los materiales nanocompuestos. Por otro lado todos los espectros muestran las bandas típicas de las vibraciones de tensión del grupo carbonilo, C=O, del PLA localizadas a 1755 cm⁻¹ así como la banda debida a las vibraciones de flexión del –CH₃ antisimétrica a 1454 cm⁻¹ y simétrica a 1361 cm⁻¹ [30]. Modo de tensión C-O del grupo éster aparece a 1225 cm⁻¹ y el modo de tensión antisimétrico aparece a 1090 cm⁻¹ [31]. Por otro lado, las bandas con menor intensidad localizadas a 920 y 956 cm⁻¹ se pueden asignar a vibraciones de la cadena principal con los modos de “rocking” del CH₃, por otro lado a 871 cm⁻¹ y 756 cm⁻¹ aparecen dos bandas que se pueden atribuir a las fases amorfa y cristalina del PLA, respectivamente [31]. En general, no se observaron cambios significativos y desplazamientos de bandas ni en función del contenido de partículas ni del tamaño de las mismas, al menos para las composiciones estudiadas y los dos tamaños de partículas considerados.

5.3.2. Caracterización térmica

Con el fin de investigar el efecto del relleno de nanopartículas de TiO₂ en la fusión y cristalización en frío de la matriz del PLA, se realizaron ensayos calorimétricos para los que se utilizó un segundo calentamiento mediante DSC a una velocidad de 20 °C/min pues se aseguró con un primer calentamiento a 100 °C/min hasta fusión total y posterior enfriamiento a 20 °C/min hasta 10 °C el borrado de la historia térmica. De esta manera, se asegura que todas las muestras estuvieron sometidas a un mismo tratamiento térmico y se pueden utilizar los resultados para comparar el comportamiento térmico del PLA en función del tipo y cantidad de nanopartículas de TiO₂. En este apartado se han omitido los termogramas del primer calentamiento y el enfriamiento.

En la Figura 5.9 se ilustran las curvas de DSC para la muestra de PLA y de los materiales nanocompuestos de PLA/TiO₂ con porcentajes de nanopartículas de 0, 1, 5, 10 y 20%.

En la Figura 5.9 (a) se representan los termogramas asociados a los materiales con nanopartículas de unos 100 nm de diámetro TiO₂-100, mientras que en la Figura 5.9 (b) se representan los termogramas para los materiales nanocompuestos en los que las nanopartículas empleadas tienen diámetros de 21 nm, TiO₂-21. En ambos casos se ha añadido el termograma asociado al PLA puro para ayudar a realizar las comparaciones pertinentes.

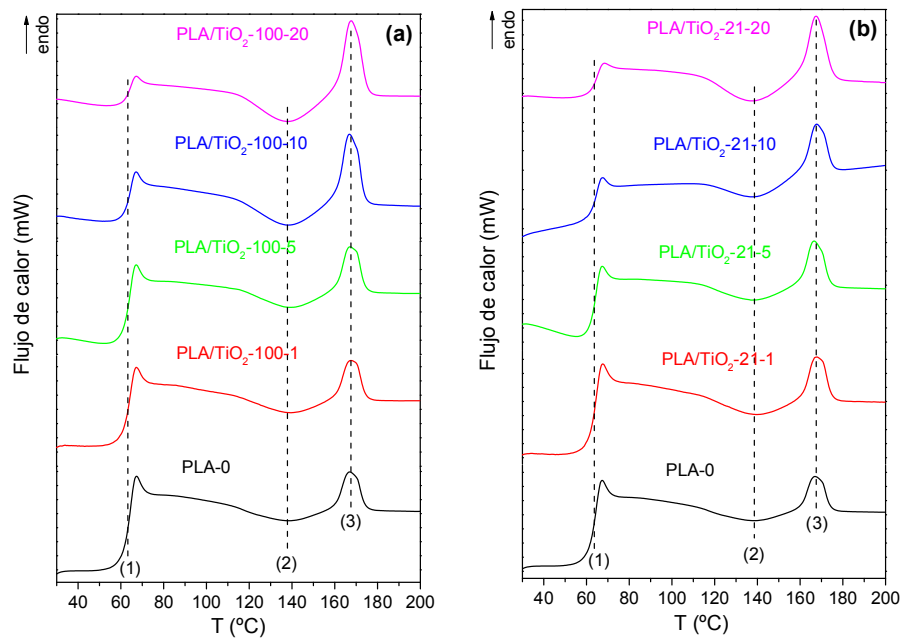


Figura 5.9.- Curva de DSC obtenida para las películas de PLA y PLA/TiO₂ en el segundo calentamiento a 20 °C/min con tamaños de partículas de: a) 100 nm y b) 21nm. (1) Transición vítrea, (2) Cristalización en frío y, (3) Fusión.

En ambas figuras se observó el comportamiento térmico típico del PLA puro, PLA-0, la transición vítrea ($T_g = 64-65\text{ °C}$) similar a las mencionadas por otros autores [32,33]. Además se puede observar con claridad en todos los casos un proceso de cristalización durante el calentamiento (cristalización en frío) con un mínimo, (T_c), en torno a 137 °C y un proceso de fusión con un máximo, T_m , a aproximadamente 167 °C . La adición de las nanopartículas de TiO₂ a la matriz polimérica no produjo cambios significativos en la temperaturas características correspondientes a las distintas transiciones térmicas de la matriz en los materiales compuestos, es decir, que las nanopartículas tienen poco efecto sobre la dinámica de las cadenas macromoleculares en las muestras estudiadas produciendo efectos similares sobre la estructura cristalina de las muestras nanocompuestas bajo las mismas condiciones de procesado [16,34,35]. Por otro lado, las muestras compuestas de PLA/TiO₂ cristalizan en un rango de temperatura de $100-130\text{ °C}$, que se corresponderían principalmente a una estructura ordenada cristalina fase α [35].

En ambas figuras se observó el comportamiento térmico típico del PLA puro, PLA-0, la transición vítrea ($T_g = 64-65\text{ }^{\circ}\text{C}$) similar a las mencionadas por otros autores [32,33]. Además se puede observar con claridad en todos los casos un proceso de cristalización durante el calentamiento (cristalización en frío) con un mínimo, (T_c), en torno a $137\text{ }^{\circ}\text{C}$ y un proceso de fusión con un máximo, T_m , a aproximadamente $167\text{ }^{\circ}\text{C}$. La adición de las nanopartículas de TiO₂ a la matriz polimérica no produjo cambios significativos en la temperaturas características correspondientes a las distintas transiciones térmicas de la matriz en los materiales compuestos, es decir, que las nanopartículas tienen poco efecto sobre la dinámica de las cadenas macromoleculares en las muestras estudiadas produciendo efectos similares sobre la estructura cristalina de las muestras nanocompuestas bajo las mismas condiciones de procesado [16,34,35]. Por otro lado, las muestras compuestas de PLA/TiO₂ cristalizan en un rango de temperatura de $100-130\text{ }^{\circ}\text{C}$, que se corresponderían principalmente a una estructura ordenada cristalina fase α [35].

Las entalpías asociadas al proceso de fusión y de cristalización como sus porcentajes de cristalinidad, tienden a aumentar significativamente debido al tamaño y porcentaje de nanorelleno. Se observa un aumento notable para las muestras con 10 y 20% de TiO₂-100.

En la Tabla 5.4 se recogen los parámetros característicos de las principales transiciones térmicas de las muestras, temperatura de transición vítrea, temperatura de cristalización y temperaturas de fusión así como los cambios energéticos asociados a las mismas. El porcentaje de cristalinidad se puede obtener a partir de los resultados de DSC teniendo en cuenta la ecuación 3.2 descrita en el capítulo 3 donde ΔH_m^0 es la entalpía de fusión de PLA 100% cristalino o de tamaño de cristal infinito, $93,6\text{ J/g}$ [36].

Se puede observar que la cristalinidad aumenta según se incrementa el porcentaje de relleno encontrándose que para las muestras con TiO₂-100 o mayor tamaño de partícula la cristalinidad es en general ligeramente mayor. Esto nos indica que tanto la presencia de TiO₂ como su tamaño influyen en la cristalinidad final del PLA [16,32]. Una posible



explicación de la primera observación podría estar asociada a un efecto nucleante ejercido por la presencia de partículas, principalmente por las de menor tamaño (TiO₂-21) debido a la posible formación de aglomerados.

Si comparamos los valores de T_g , T_c y T_m obtenidos para la película de PLA-0 con las muestras nanocompuestas PLA/TiO₂, vemos que permanecen prácticamente constante, independientemente de la cantidad y tamaño de nanopartículas, es decir, no se observan cambios significativos.

Tabla 5.4.- Temperaturas de transición vítrea, cristalización y fusión, entalpías de cristalización en frío, entalpía de fusión y fracción cristalina generada en frío y fracción cristalina real para las muestras de PLA-0 y PLA/TiO₂ en forma de películas.

Muestras	T_g (°C)	T_c (°C)	ΔH_{c-c} (J/g polímero)	X_{c-c} (%)	T_m (°C)	ΔH_{c-m} (J/g polímero)	X_{real} (%)
PLA-0	64,6	136,9	1,67	1,65	166,8	3,04	1,63
PLA/TiO ₂ -100-1	64,5	137,5	2,36	3,10	167,4	4,26	2,53
PLA/TiO ₂ -100-5	64,2	137,2	2,26	2,87	167,1	4,12	2,35
PLA/TiO ₂ -100-10	64,5	136,7	6,32	7,60	166,7	10,5	5,00
PLA/TiO ₂ -100-20	64,5	136,9	12,7	13,6	167,7	20,5	8,30
PLA/TiO ₂ -21-1	64,6	136,9	2,09	2,24	167,8	4,00	2,03
PLA/TiO ₂ -21-5	64,6	136,9	2,46	2,63	166,5	4,49	2,17
PLA/TiO ₂ -21-10	64,8	137,4	5,41	5,58	167,9	9,69	4,41
PLA/TiO ₂ -21-20	65,3	136,3	8,19	8,75	167,4	12,9	4,95

Por otra parte, la caracterización térmica de las muestras se completó mediante el análisis termogravimétrico (TGA). El análisis termogravimétrico se utilizó para determinar las temperaturas de degradación y la estabilidad térmica de los diferentes materiales.

En la Figura 5.10 (a) se ilustra la variación del porcentaje en peso con la temperatura y en la Figura 5.10 (b) la variación de la primera derivada del porcentaje en peso con la temperatura para las muestras con partículas de TiO₂-100, respectivamente.

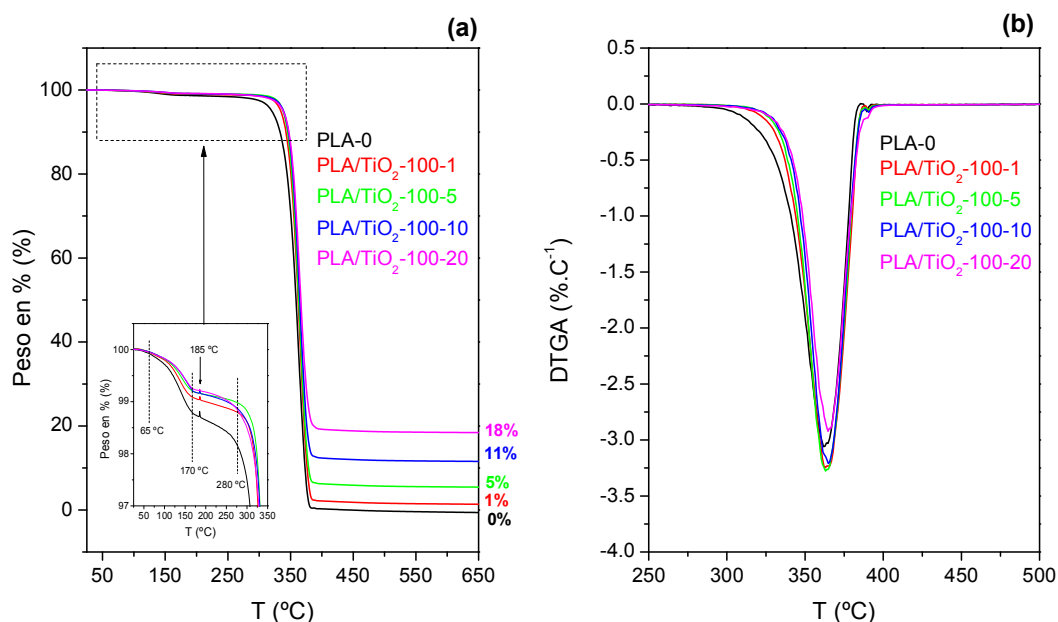


Figura 5.10.- Análisis térmico de películas de PLA y PLA/TiO₂ con tamaño de partículas de 100 nm de a) curva de variación de porcentaje en peso con la temperatura y b) DTGA - primera derivada del porcentaje peso con la temperatura.

En la Figura 5.10 (a) se observa que en el polímero puro, PLA-0, hay una pérdida de masa entre 65-170 °C que se atribuye a la pérdida de humedad y de materia orgánica. Después de los 170 °C y antes de los 280 °C, la curva tiende a ser plana, seguidamente mientras la temperatura continua aumentando la curva cae precipitadamente, lo que significa que el PLA-0 se ha degradado térmicamente. No se observó pérdida de peso por encima de los 445 °C para el PLA-0, indicando que la muestra se calcinó completamente. De igual manera, para las muestras nanocompuestas se observó una pérdida de peso significativa entre 280-390 °C, debido a la descomposición de la cadena principal del PLA-0 [37]. De 390 a 500 °C las curvas de análisis térmico bajan lentamente, debido principalmente a la formación de cristales de TiO₂ y a la descomposición del PLA en cual se encaja en los cristales de TiO₂ [37]. Por otra parte, se observó la aparición de un pico



cerca a los 185 °C, temperatura que puede ser asignada a la temperatura final de fusión observada en la curva de DSC (Figura 5.10) para las muestras estudiadas.

Por otro lado, a partir de la curva DTGA del PLA-0 (Figura 5.10b), se calcularon las temperaturas de degradación T_5 y T_{95} , 331,9 y 382,9 °C, respectivamente. Se observó que para las muestras nanocompuestas con partículas de TiO₂-100, los valores de T_5 y T_{95} aumentan a medida que aumenta la concentración en porcentaje de partículas, por lo tanto las muestras nanocompuestas presentan una estabilidad más alta, es decir, que su degradación térmica se da a una temperatura muy por encima que las muestras de PLA-0. De igual manera ocurre para la temperatura a la que la velocidad de degradación es máxima, es decir, la temperatura del pico, T_p , de la muestra de PLA-0 ($T_p = 361,8$ °C), donde las muestras nanocompuestas mostraron una estabilidad térmica por encima del PLA-0.

En la Figura 5.11 (a) y (b) se ilustran la variación del porcentaje en peso con la temperatura y la primera derivada del porcentaje en peso con la temperatura para las muestras con partículas de TiO₂-21, respectivamente.

En ambas figuras se compara con el PLA-0. La T_5 , T_{95} y T_p para las muestras nanocompuestas presentaron valores de temperaturas por encima del PLA-0, es decir, el PLA-0 presenta una estabilidad más baja que las muestras nanocompuestas, encontrándose resultados similares a los obtenidos cuando el tamaño de partícula es de 100 nm (véase Figura 5.10).

Al final de la degradación térmica, todas las muestras nanocompuestas presentaron valores de porcentajes de relleno de partículas muy próximos a los teóricos. En todos los casos, las temperaturas de degradación de los materiales compuestos eran superiores a la temperatura de degradación del PLA puro (PLA-0), independientemente del tamaño de partícula empleado como relleno (TiO₂ de 21 ó 100 nm).

Por otra parte, cuando comparamos los resultados en función del tipo de partículas, para un porcentaje constante de relleno, no existe una tendencia clara en cuanto al efecto del tamaño de partículas en la temperatura de degradación. Los resultados mostraron que la degradación térmica para las muestras nanocompuestas se produjeron dentro de un rango de temperaturas entre 335 y 390 °C ($\Delta T < 55$ °C). Para Carrasco y otros autores [33], un intervalo de temperatura relativamente estrecho se da a $\Delta T < 50$ °C.

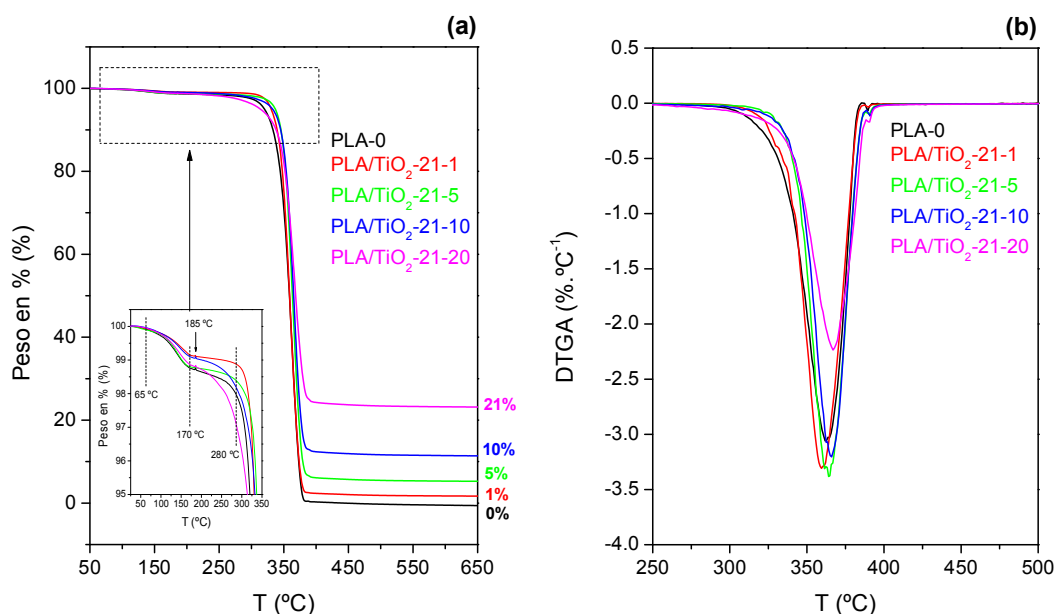


Figura 5.11.- Análisis térmico de películas de PLA y PLA/TiO₂ con tamaño de partículas de 21 nm de a) curva de variación de porcentaje en peso con la temperatura y b) DTGA - primera derivada del porcentaje peso con la temperatura.

En la Tabla 5.5 se recogen las temperaturas características obtenidas a partir del estudio mediante análisis termogravimétrico (TGA) de las muestras de PLA y PLA rellenas con TiO₂ (en atmósfera de nitrógeno).



Tabla 5.5.- Temperaturas características de la descomposición térmica de las muestras estudiadas, determinadas por TGA.

Muestra	T ₅ (°C)	T ₉₅ (°C)	ΔT ₅₋₉₅ (°C)	T _p (°C)
PLA-0	331,9	382,9	51,0	361,8
PLA/TiO ₂ -100-1	337,4	385,9	48,5	363,0
PLA/TiO ₂ -100-5	338,9	385,1	46,2	363,1
PLA/TiO ₂ -100-10	341,2	384,6	43,4	364,9
PLA/TiO ₂ -100-20	341,2	385,9	44,7	364,7
PLA/TiO ₂ -21-1	335,8	383,3	47,5	359,5
PLA/TiO ₂ -21-5	340,7	385,2	44,5	364,0
PLA/TiO ₂ -21-10	341,9	385,1	43,2	366,1
PLA/TiO ₂ -21-20	338,5	390,0	51,5	366,9

5.3.3. Caracterización mecánica

Los ensayos de tracción permiten conocer mejor el comportamiento en servicio que tienen los materiales preparados y cómo puede afectar la composición de un material nanocompuesto a la resistencia y ductilidad del mismo. En este apartado, se estudió la influencia de la presencia de nanopartículas de TiO₂ en las propiedades mecánicas del PLA a partir de ensayos de tensión-deformación empleando una velocidad de desplazamiento entre mordazas de la máquina de ensayos de 2 mm/min.

En la Figura 5.12 se muestran a modo de ejemplo algunas de las curvas de tensión-deformación ingenieril obtenidas para los materiales bajo estudio. Como se puede observar la adición de partículas reduce altamente la fluencia (deformación plástica) del PLA, siendo el efecto más pronunciado para la muestra con el 10% de partículas (PLA/TiO₂-21-10 y PLA/TiO₂-100-10).

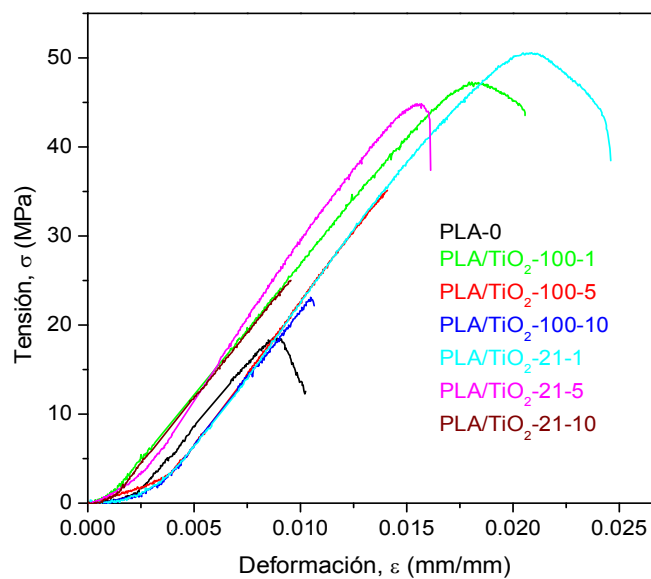


Figura 5.12.- Curvas de tensión-deformación para todas las muestras a 2 mm/min.

Por otra parte, para evaluar los resultados obtenidos cuantitativamente, en la Tabla 5.6 se resumen los parámetros mecánicos obtenidos a partir del análisis de las curvas de tracción.

Tabla 5.6.- Propiedades mecánicas extraídas de curvas de la Figura 5.12 para las muestras de PLA y PLA/TiO₂.

Muestra	E (GPa)	σ_y (MPa)	σ_{max} (MPa)	σ_{rotura} (MPa)	ϵ (%)
PLA-0	2,9±0,3	18,6±7,1	28,7±8,0	14,8±7,8	1,7±0,8
PLA/TiO ₂ -100-1	3,0±0,3	32,3±2,4	46,6±4,0	43,2±3,3	2,3±0,5
PLA/TiO ₂ -100-5	3,2±0,4	32,2±1,3	41,5±7,0	40,8±7,3	1,7±0,3
PLA/TiO ₂ -100-10	3,1±0,3	16,0±7,2	20,8±7,2	19,5±6,8	1,0±0,3
PLA/TiO ₂ -21-1	3,3±0,1	35,5±2,5	46,7±4,5	42,3±5,6	2,3±0,8
PLA/TiO ₂ -21-5	3,5±0,2	25,7±2,1	39,2±5,9	38,2±5,9	1,7±0,2
PLA/TiO ₂ -21-10	3,2±0,4	16,1±0,2	25,1±2,0	24,5±1,4	1,0±0,2



En la Figura 5.13 se ilustra la variación del módulo Young de las muestras estudiadas en función del contenido en partículas de TiO₂-21 y TiO₂-100 (0, 1, 5 y 10%).

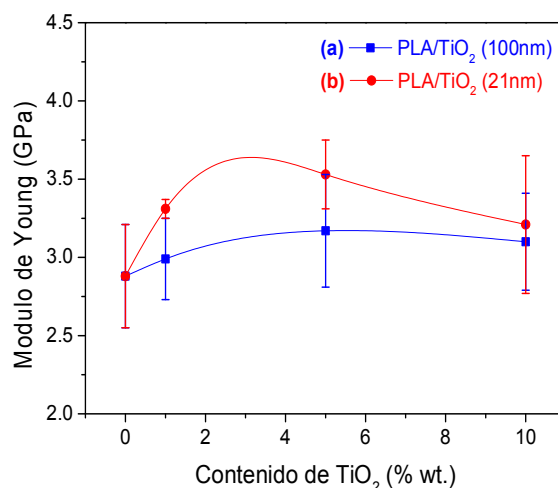


Figura 5.13.- Módulo de Young de PLA y nanocompuestos de PLA/TiO₂ con diferentes porcentajes y tamaños de partículas: a) TiO₂-100 y, b) TiO₂-21.

Las barras de error muestran la dispersión obtenida en estos experimentos y se corresponde con los datos mostrados en la Tabla 5.6. Independientemente del tamaño de partículas de TiO₂ (21 ó 100 nm), se observa una tendencia similar en la variación del módulo de Young en función de la cantidad de relleno. Por un lado, el módulo de Young aumenta inicialmente para 1% de TiO₂, alcanzándose una estabilización alrededor del 5%. Finalmente el módulo de Young disminuye a partir del 5% en TiO₂, encontrándose la disminución más significativa para las muestras con el mayor porcentaje de TiO₂ (10%). En cualquier caso, el valor del módulo de Young obtenido para las muestras con un 10% en peso de TiO₂ nunca es inferior al de la matriz de PLA, es decir, las propiedades de la matriz no empeoran con la introducción de las partículas de TiO₂. En general, la rigidez de las muestras nanocompuestas es mayor que para el PLA-0 siendo que las muestras con relleno de partículas de tamaño de 21 nm las que presentaron un mayor módulo de Young.

Por otro lado, una posible explicación para la disminución del módulo observada podría ser la formación de agregados o incluso aglomerados a medida que aumenta el

contenido en partículas. En general, la mejora en el módulo está relacionada con la rigidez y la calidad de la dispersión de las partículas de TiO₂, la interacción interfacial y a la adhesión de las nanopartículas en la matriz [38].

En la Figura 5.14 se ilustra la variación de la tensión máxima de las muestras estudiadas en función del contenido en partículas de TiO₂-21 y TiO₂-100 (0, 1, 5 y 10%). Las barras de error ilustran la dispersión obtenida en estos experimentos y se corresponde con los datos mostrados en la Tabla 5.6. En primer lugar, se observa que independientemente del tamaño de partículas de TiO₂ (21 ó 100 nm), la variación de la tensión máxima presenta una tendencia similar en la en función de la cantidad de relleno.

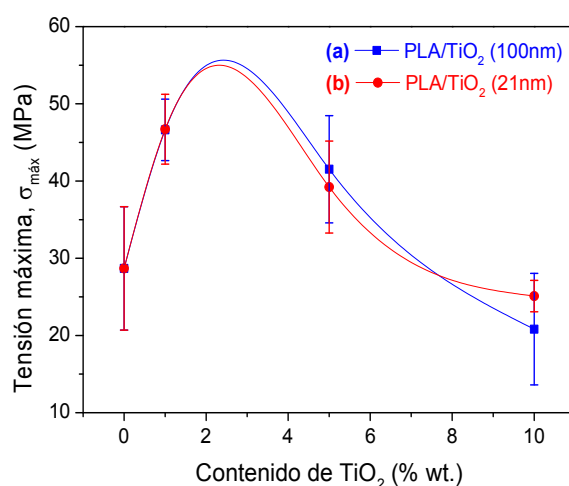


Figura 5.14.- Tensión máxima para el PLA y nanocompuestos de PLA/TiO₂ con diferentes porcentajes y tamaños de partículas: a) TiO₂-100 y, b) TiO₂-21.

Se observó un aumento significativo a la resistencia a la tracción para las muestras con porcentajes de relleno de partículas de 1 y 5%, sin embargo, estos valores disminuyen por debajo de la muestra de PLA-0 para las muestras con relleno partículas de 10%. Este incremento en la resistencia a tracción con la concentración de partículas sugiere un incremento en el efecto reforzante a través de la transferencia de cargas de las partículas de TiO₂, donde este efecto se podría atribuir a una buena dispersión de las partículas que depende de la buena distribución y orientación de las partículas en la



matriz polimérica. Sin embargo, cuando el contenido en partículas es muy alto, se produce una fragilidad mayor del material y el material rompe antes, por lo que se obtienen valores de resistencia a la tracción inferiores a los del resto de las muestras. Otra posible explicación es que para altos contenidos en partículas se pueden formar pequeños aglomerados de partículas, lo que se traduciría en la pérdida de las propiedades mecánicas. En segundo lugar, podemos decir que se da una buena dispersión para las muestras con 1% de contenido de partículas que se ve demostrado por los valores de resistencia a la tracción obtenidos para PLA/TiO₂-100-1 (46,6 MPa) y PLA/TiO₂-21-1 (46,7 MPa), respectivamente. De igual manera ocurre para las muestras con 5% en relleno, pero en las cuales sus valores tienden a disminuir.

En la Figura 5.15 se ilustra la deformación a la rotura de las muestras estudiadas en función del contenido en partículas de TiO₂-21 y TiO₂-100 (0, 1, 5 y 10%). Las barras de error ilustran la dispersión obtenida en estos experimentos y se corresponde con los datos mostrados en la Tabla 5.6.

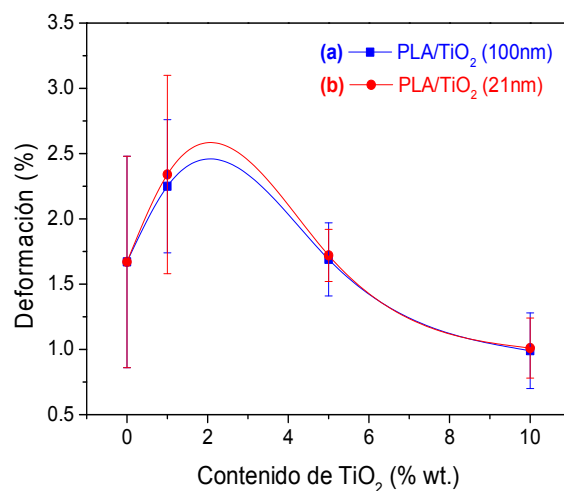


Figura 5.15.- Deformación a la rotura para PLA y nanocompuestos de PLA/TiO₂ con diferentes porcentajes y tamaños de partículas de TiO₂: a) 100 nm y, b) 21 nm.

En primer lugar, se observa que independientemente del tamaño de partículas de TiO₂ (21 ó 100 nm), la deformación a rotura presenta una tendencia similar en la en función de la cantidad de relleno.

En la Figura 5.15 se pueden observar que la deformación a rotura aumenta para el 1% de nanopartículas, disminuye alcanzando el valor de la matriz polimérica sin relleno para las muestras con un 5% de nanopartículas y disminuye nuevamente para las muestras con el mayor porcentaje de partículas (10%). La deformación a rotura más baja se obtuvo para la muestra con un 10% en peso de nanopartículas, siendo incluso inferior a la del PLA puro. Este resultado se debe al aumento de fragilidad en el material con el contenido en partículas. El hecho de que las propiedades mecánicas de los nanocompuestos mejoran puede explicarse por el efecto de confinamiento de las partículas de TiO₂, las que otorgan una restricción del movimiento de las cadenas del polímero dentro de su matriz polimérica [39]. Los valores de deformación a la rotura están de acuerdo con los de la resistencia a la tracción para todas las muestras analizadas.

5.3.4.- Estudio del comportamiento bacteriano

Este estudio se llevó a cabo desde dos puntos de vista, el primero se basó en el efecto de la propia presencia de nanopartículas en el PLA y de cómo afecta su proporción, es decir la composición del material nanocompuesto. Estos estudios se basaron simplemente en el estudio de la cantidad de bacterias o biofilm generado en función del tipo de material. Para ello se realizaron dos tipos de ensayos, uno basado en la simple inspección con microscopio electrónico del biofilm generado sobre las superficies de los materiales y el otro en el recuento de bacterias.



Efecto de la presencia de nanopartículas de TiO₂

Con objeto de realizar posteriores comparaciones, en la Figura 5.16 (comparación asociada a nanocompuestos con nanopartículas con diámetro ~ 21 nm) y Figura 5.17 (comparación asociada a nanocompuestos con nanopartículas con diámetro ~ 100 nm) se muestran imágenes obtenidas a los mismos aumentos por microscopia electrónica de barrido, SEM, de la superficie de los materiales preparados sobre los que se generaron las biopelículas a estudiar.

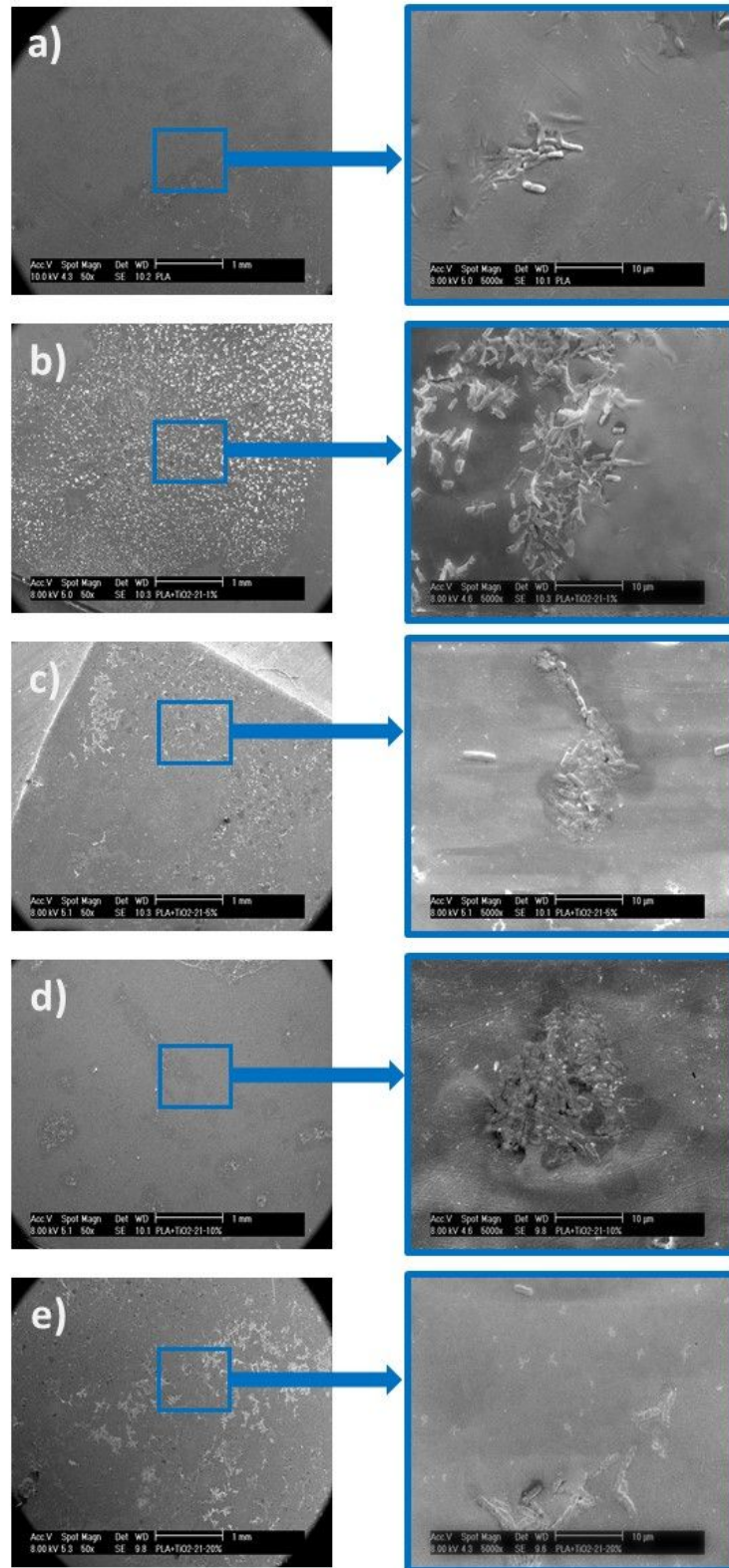


Figura 5.16.- Imágenes de SEM obtenidas mediante electrones secundarios (SE): a) PLA-0, b) PLA/TiO₂-21-1, c) PLA/TiO₂-21-5, d) PLA/TiO₂-21-10 y, e) PLA/TiO₂-21-20.

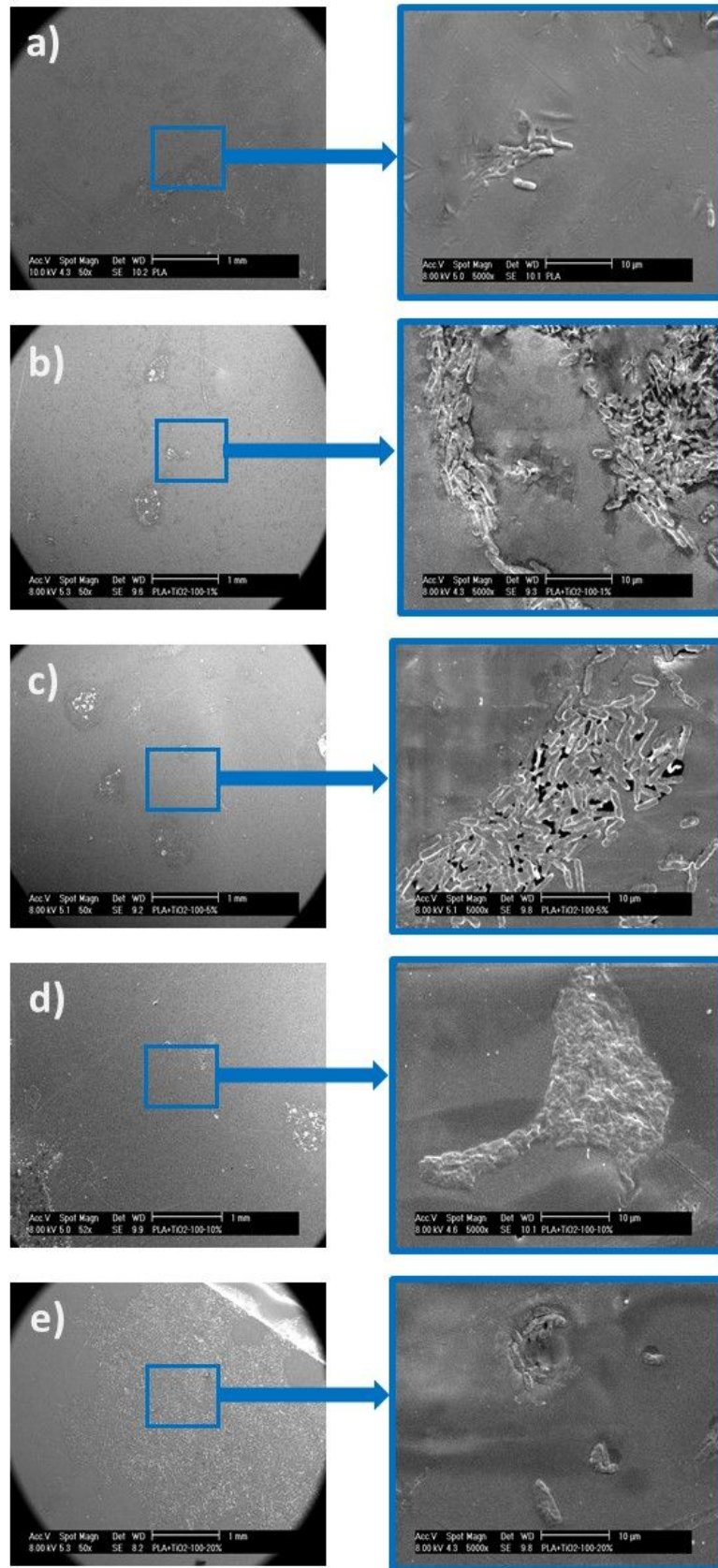


Figura 5.17.- Imágenes de SEM obtenidas mediante electrones secundarios (SE): a) PLA-0, b) PLA/TiO₂-100-1, c) PLA/TiO₂-100-5, d) PLA/TiO₂-100-10 y, e) PLA/TiO₂-100-20.

En el caso del PLA (Figuras 5.16 y 5.18), solo se aprecian con claridad algunas bacterias lo que podría inducir a pensar que la proliferación de las mismas ha sido mínima. Sin embargo, realizando observaciones cuidadosas a aumentos de 5000× y 8000× se pueden observar en algunas regiones huecos en los que se aprecia con claridad que las bacterias se encuentran por debajo de un material que las oculta (véase círculo discontinuo en Figura 5.18c). Por tanto, se podría concluir que sobre PLA puro la proliferación de bacterias es grande, tanto es así que el biofilm generado posee alta proporción de lo que se denomina sustancia polimérica extracelular, EPS [40–43], que rodea a las bacterias tanto como para finalmente ocultarlas cuando se quieren inspeccionar por SEM. Recordemos que esta técnica solo permite visualizar superficies y morfologías asociadas a cambios composicionales siempre que la proporción de elementos de diferente masa molar sea apreciable. En el caso que nos ocupar tanto las bacterias como la EPS están formadas fundamentalmente por carbono por lo que las hace indistinguible bajo observación por microscopía electrónica de barrido haciendo uso de la señal de electrones retrodispersados.

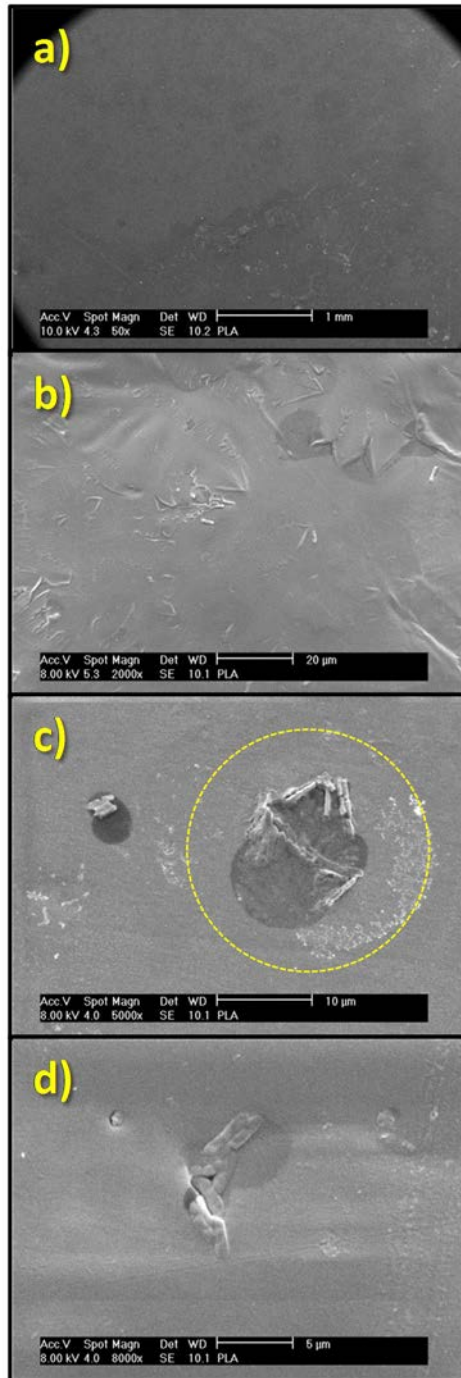


Figura 5.18.- Imágenes de SEM a distintos aumentos del biofilm generado sobre una superficie de PLA puro (PLA-0).

Por otro lado, en el caso de los materiales nanocompuestos se pueden observar con mayor facilidad las bacterias como entes individuales (Figuras 5.16, 5.17, 5.19 y 5.20). Este resultado puede ser debido a un menor recubrimiento de la superficie del material

nanocompuesto por el biofilm, es decir menor cantidad de materia polimérica extracelular, EPS. Si comparamos las imágenes a distintos aumentos de los materiales nanocompuestos en función de las distintas cantidades de nanopartículas de TiO₂ (Figuras 5.19 y 5.20) no se aprecian diferencias significativas. En algunos casos parece apreciarse con mayor claridad la falta de continuidad en el biofilm pero eso es simplemente debido a la región de inspección seleccionada.

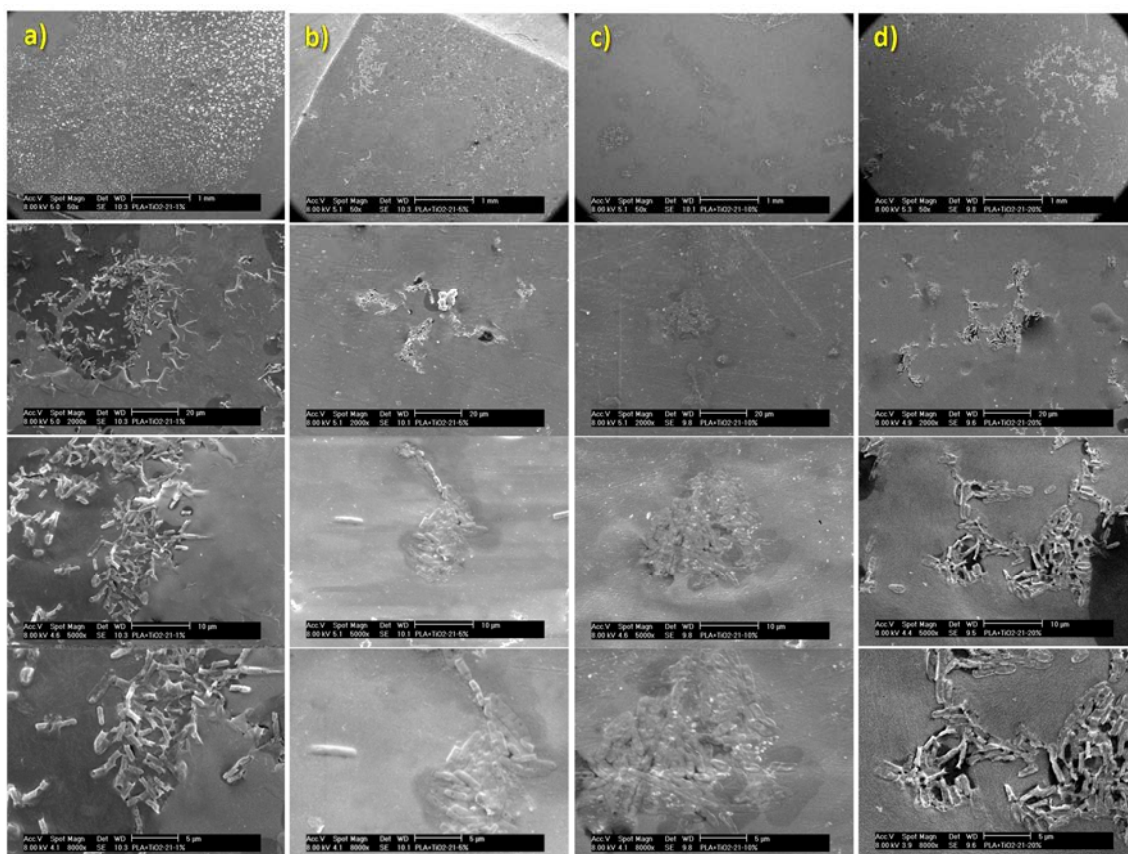


Figura 5.19.- De arriba abajo filas de imágenes a distintos aumentos: 50 ×; 2000 ×; 5000 × y 8000 × de los materiales nanocompuestos PLA/TiO₂ ($\phi \sim 21$ nm) a distintas composiciones en tanto por ciento en peso de nanopartículas: a) 1%; b) 5%; c) 10% y d) 20%.

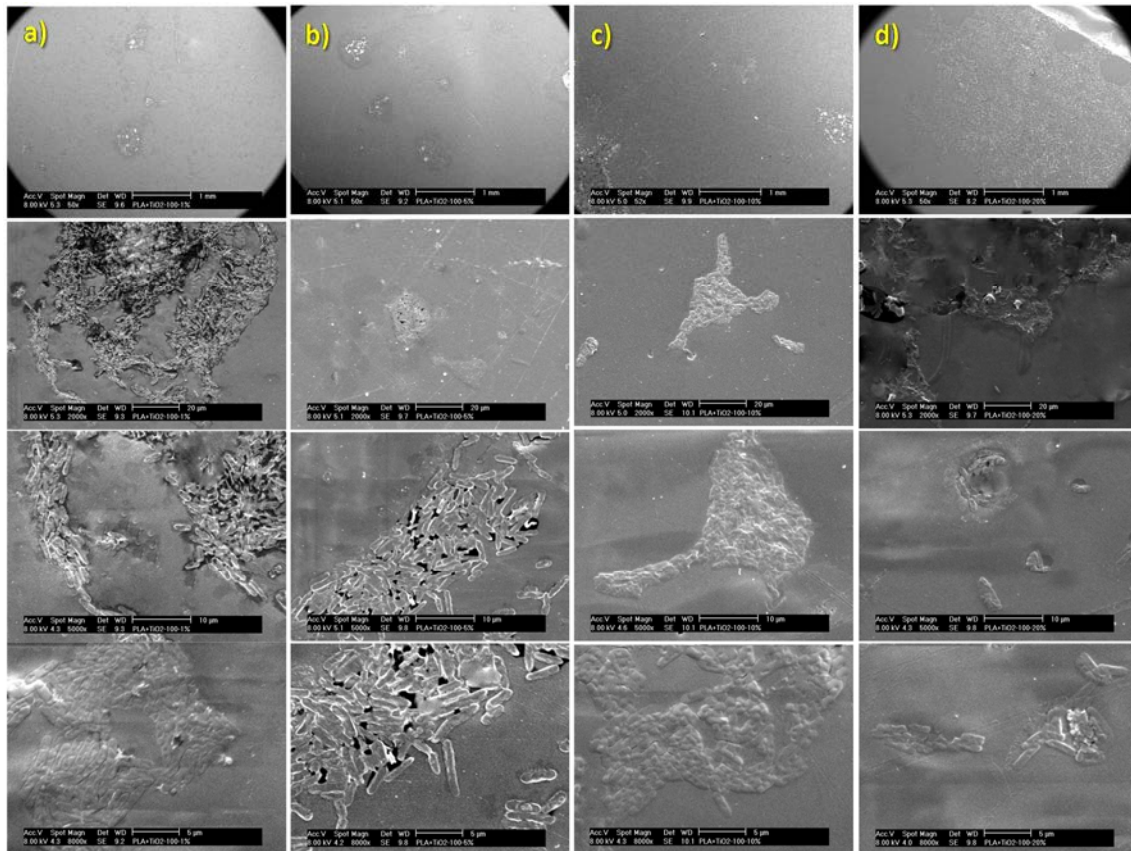


Figura 5.20.- De arriba abajo filas de imágenes a distintos aumentos: 50 ×; 2000 ×; 5000 × y 8000 × de los materiales nanocompuestos PLA/TiO₂ ($\phi \sim 100$ nm) a distintas composiciones en tanto por ciento en peso de nanopartículas: a) 1%; b) 5%; c) 10% y d) 20%.

En general, las bacterias miden de ancho entre 500-600 nm, mientras que su longitud varía entre 2 – 3 μm dependiendo del estado de bipartición en el que se encuentren [44]. No obstante, existen diferencias significativas entre algunas bacterias (Figura 5.21). Nos encontramos bacterias aparentemente más grandes con forma obloide (Figura 5.21a) y bacterias de menor tamaño que tienden a tener una geometría cilíndrica (Figura 5.21b) o más estrechas y alargadas (Figura 5.21c). Estas dos últimas geometrías las presentan bacterias crecidas sobre materiales nanocompuestos, las primeras sobre materiales con nanopartículas de 21 nm de diámetro aproximadamente y las segundas sobre materiales con nanopartículas de 100 nm de diámetro aproximadamente.

Las conclusiones iniciales que se pueden extraer de todos estos resultados es que la presencia de nanopartículas de TiO₂ disminuye la capacidad de desarrollo de los biofilms de *E. coli* (DH5 α TM) (Figuras 5.18, 5.19 y 5.20) y que esa disminución parece deberse a un ataque directo sobre el metabolismo de las bacterias. Las bacterias observadas bajo la presencia de nanopartículas parecen ser menores de tamaño o alargadas por lo que parece que su crecimiento se encuentra alterado. Además, las bacterias generadas sobre nanocompuestos con nanopartículas de menor tamaño, $\phi \sim 21$ nm (Figura 5.21b) son aún menores que las generadas en las nanopartículas de diámetro ~ 100 nm (Figura 5.21c) lo que induce a pensar que el tamaño de las nanopartículas influye en el desarrollo bacteriano. Probablemente una mayor relación superficie volumen hace más efectivo el carácter catalítico oxidativo del óxido de titanio sobre la materia orgánica asociada tanto a la EPS como las propias bacterias.

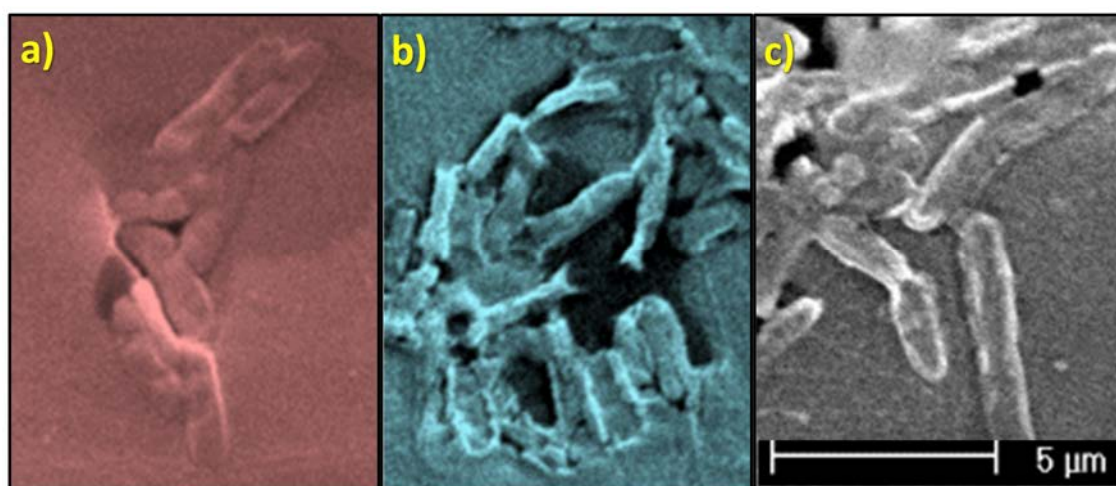


Figura 5.21.- Morfología de bacterias en función de material sobre el que se desarrollan: a) PLA puro; b) PLA con nanopartículas de TiO₂ con $\phi \sim 21$ nm y c) PLA con nanopartículas de TiO₂ con $\phi \sim 100$ nm

En la Figura 5.22 se muestran las fotografías asociadas a las interfases sin bacterias que aparecen para todos los materiales al llevar a cabo el estudio por el método de Kirby Bauer. En primer lugar cabe destacar que el propio PLA da lugar a una pequeña región en la que no ha habido crecimiento de bacterias por que se podría concluir que dicho material tiene cierto comportamiento antibacteriano. Por otro lado, se puede observar



que al añadir nanopartículas de TiO₂ al PLA la interfase aumenta ligeramente, siendo este efecto mayor al aumentar el contenido de partículas. Sin embargo, de la simple inspección podría no quedar del todo claro el cambio en el espesor de dicha región de ahí que se hayan realizado medidas para todas las muestras en diferentes regiones asociadas al borde de los films.

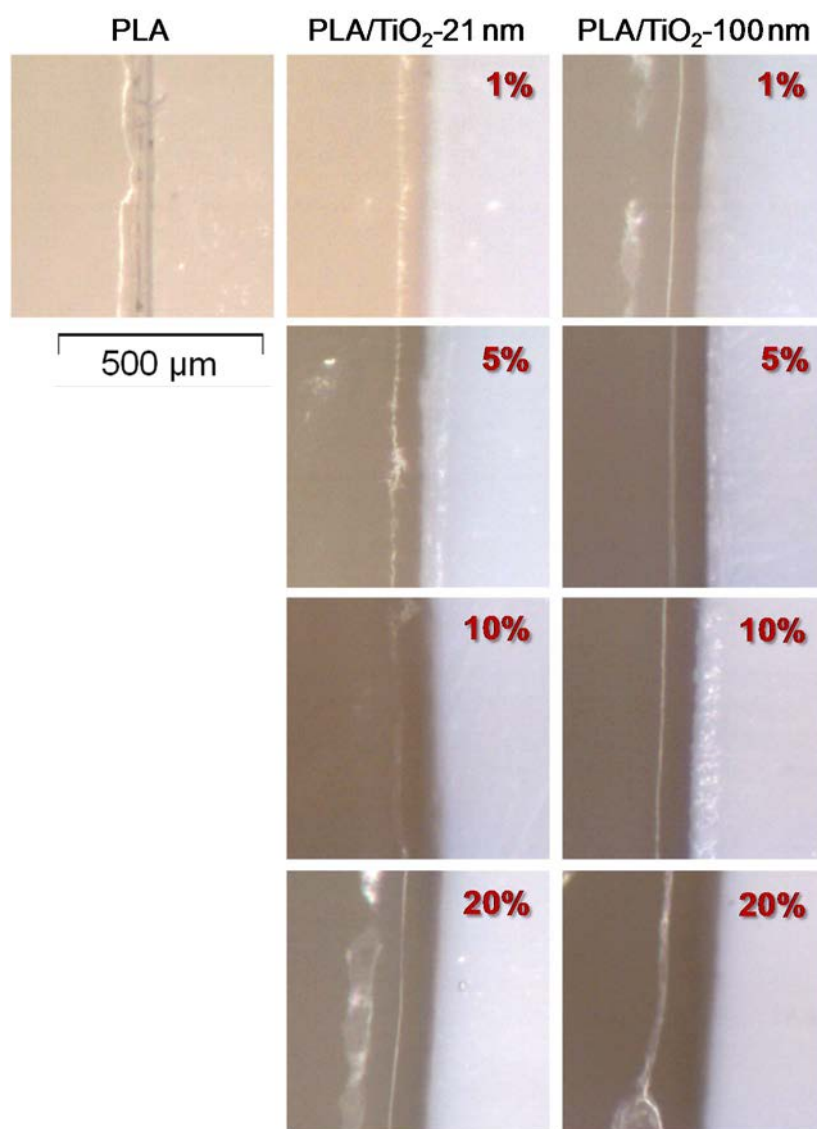


Figura 5.22.- Fotografías asociadas a las interfases sin bacterias.

En la Figura 5.23 se ha representado en forma de diagrama de barras el valor promedio de dichos espesores (distancia de inhibición) en función del porcentaje de

nanopartículas de TiO₂ tanto para aquellas que tienen diámetros de aproximadamente 21 nm como para aquellas que tienen diámetros en torno a los 100 nm.

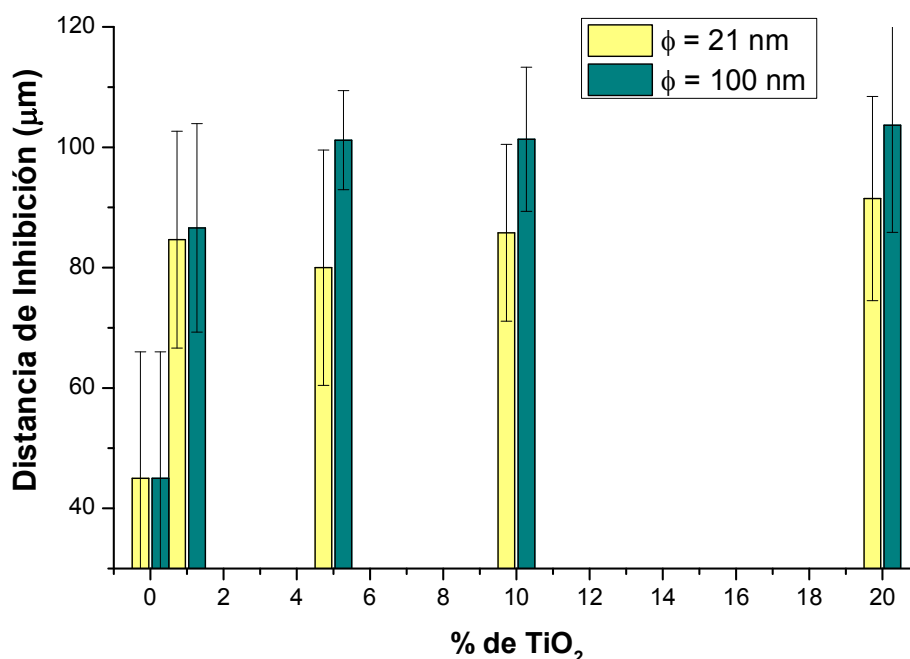


Figura 5.23.- Distancia de inhibición en experimentos de Kirby-Bauer en función del porcentaje de nanopartículas de TiO₂ tanto para las 21 nm como para las de 100 nm de diámetro.

En este caso se puede observar con más claridad la tendencia a aumentar de la distancia de inhibición a medida que la cantidad de nanopartículas aumenta en el interior de la matriz de PLA. Por otro lado, se puede observar que en el caso de utilizar nanopartículas más grandes la inhibición parece ser ligeramente mayor. Este último resultado es aparentemente contradictorio al argumento expuesto sobre la relación superficie-volumen de nanopartículas con el que se indicó que una mayor relación superficie-volumen puede hacer más efectivo el carácter catalítico oxidativo del óxido de titanio sobre la materia orgánica asociada tanto a la EPS. Sin embargo, hay que tener en cuenta que el error asociado a los valores de la Figura 5.23 son lo suficientemente grandes como para considerar que dichas distancias de inhibición sean independientes del tamaño de nanopartículas. Por otro lado, se podría considerar otro efecto que hiciera compensar el mayor carácter oxidativo de las nanopartículas de menor tamaño. Éste podría ser un mayor carácter hidrofílico. Una mayor relación superficie-volumen debería dar lugar,



teniendo en cuenta la estructura química del TiO₂, a un mayor carácter hidrofílico lo que llevaría un aumento de la adhesión celular correspondiente, en este caso de las bacterias. Todos estos argumentos quedarían respondidos mediante un estudio exhaustivo de las características superficiales de los materiales, por ejemplo, mediante la determinación de energías de superficie a partir de medidas de ángulo de contacto y un profundo estudio de adhesión bacteriana. Dichos estudios están programados para realizarlos en un futuro próximo.

5.4.- Conclusiones parciales

- ✚ En este capítulo se ha estudiado el efecto de las partículas de TiO₂ en la matriz polimérica del PLA bajo diferentes condiciones de porcentajes de relleno, tamaños de partículas, temperatura y procesado.
- ✚ Se han caracterizado los materiales obtenidos mediante el método de “casting” por difracción de rayos X, espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier mediante reflectancia total atenuada, microscopía electrónica de barrido, calorimetría diferencial de barrido, análisis termogravimétrico y ensayos mecánicos.
- ✚ La ligera disminución de los picos observados por difracción de rayos X demuestra que la intensidad disminuye probablemente a una leve reducción global de la cristalinidad de los nanocompuestos o a una buena dispersión de las partículas.
- ✚ La temperatura de transición vítrea no presentó cambios significativos por lo cual la estabilidad térmica de los cristales no se vio afectada por la etapa del procesado. Así mismo, las temperaturas de degradación térmica para las muestras nanocompuestas de PLA/TiO₂ se dieron por arriba que la muestra de PLA sin partículas, lo que resulta en una estabilidad térmica mayor para las muestras nanocompuestas.
- ✚ El tamaño de partículas influenció en las propiedades térmicas y de cristalinidad de las muestras, siendo sus valores más altos para las muestras con tamaños de partículas mayores (100 nm), lo que demuestra que la presencia de las partículas promueven cristalización significativamente en los materiales compuestos.
- ✚ Las mejoras significativas en el módulo y el límite elástico del PLA confirman claramente el efecto de refuerzo de las partículas de TiO₂ en los materiales con un

porcentaje de relleno de 1 y 5%, que se atribuye a la buena distribución y orientación de las partículas en la matriz polimérica, sin embargo, una pérdida en las propiedades de tracción para las muestras con un porcentaje de 10%.

- ✚ Se pudo observar con mayor facilidad la presencia de bacterias en las muestras nanocompuestas debido a un menor recubrimiento de la superficie del material nanocompuesto por el biofilm, es decir menor cantidad de materia polimérica extracelular, EPS. Estos resultados sugieren que la presencia de nanopartículas de TiO₂ disminuye la capacidad de desarrollo de los biofilms de *E. coli* (DH5αTM) y que esa disminución parece deberse a un ataque directo sobre el metabolismo de las bacterias y al efecto catalítico del TiO₂. Sin embargo, se podría considerar otro efecto que hiciera compensar el mayor carácter oxidativo de las nanopartículas de menor tamaño es un mayor carácter hidrofílico. Una mayor relación superficie-volumen debería dar lugar, teniendo en cuenta la estructura química del TiO₂, a un mayor carácter hidrofílico lo que llevaría un aumento de la adhesión bacteriana.



REFERENCIAS

- [1] Jouault N, Zhao D, Kumar SK. Role of casting solvent on nanoparticle dispersion in polymer nanocomposites. *Macromolecules* 2014;47:5246–55. doi:10.1021/ma500619g.
- [2] Buzarovska A. PLA nanocomposites with functionalized TiO₂ nanoparticles. *Polym Plast Technol Eng* 2013;52:280–6. doi:10.1080/03602559.2012.751411.
- [3] Olmos D, Rodríguez-Gutiérrez E, González-Benito J. Polymer structure and morphology of low density polyethylene filled with silica nanoparticles. *Polym Compos* 2012;33:2009–21. doi:10.1002/pc.22343.
- [4] Olmos D, Domínguez C, Castrillo PD, Gonzalez-Benito J. Crystallization and final morphology of HDPE: effect of the high energy ball milling and the presence of TiO₂ nanoparticles. *Polymer (Guildf)* 2009;50:1732–42. doi:10.1016/j.polymer.2009.02.011.
- [5] Meaurio E, López-Rodríguez N, Sarasua JR. Infrared spectrum of poly (L-lactide): application to crystallinity studies. *Macromolecules* 2006;39:9291–301. doi:10.1021/ma061890r.
- [6] Chiang MF, Chu MZ, Wu TM. Effect of layered double hydroxides on the thermal degradation behavior of biodegradable poly(L-lactide) nanocomposites. *Polym Degrad Stab* 2011;96:60–6. doi:10.1016/j.polymdegradstab.2010.11.002.
- [7] Martinez-Gutierrez F, Boegli L, Agostinho A, Sánchez EM, Bach H, Ruiz F, et al. Anti-biofilm activity of silver nanoparticles against different microorganisms. *Biofouling* 2013;29:651–60. doi:10.1080/08927014.2013.794225.
- [8] Nieto Pozo I, Olmos D, Orgaz B, Božanić DK, González-Benito J. Titania nanoparticles prevent development of *Pseudomonas fluorescens* biofilms on polystyrene surfaces. *Mater Lett* 2014;127:1–3. doi:10.1016/j.matlet.2014.04.073.
- [9] Bahloul W, Mélis F, Bounor-Legaré V, Cassagnau P. Structural characterisation and antibacterial activity of PP/TiO₂ nanocomposites prepared by an in situ sol-gel method. *Mater Chem Phys* 2012;134:399–406. doi:10.1016/j.matchemphys.2012.03.008.
- [10] Robertson JMC, Robertson PKJ, Lawton LA. A comparison of the effectiveness of

- TiO₂ photocatalysis and UVA photolysis for the destruction of three pathogenic micro-organisms. *J Photochem Photobiol A Chem* 2005;175:51–6. doi:10.1016/j.jphotochem.2005.04.033.
- [11] Rincón AG, Pulgarin C. Photocatalytical inactivation of *E. coli*: Effect of (continuous-intermittent) light intensity and of (suspended-fixed) TiO₂ concentration. *Appl Catal B Environ* 2003;44:263–84. doi:10.1016/S0926-3373(03)00076-6.
- [12] Trapalis CC, Keivanidis P, Kordas G, Zaharescu M, Crisan M, Szatvanyi A, et al. TiO₂ (Fe³⁺) nanostructured thin films with antibacterial properties. *Thin Solid Films* 2003;433:186–90. doi:10.1016/S0040-6090(03)00331-6.
- [13] Arroyo JM, Olmos D, Orgaz B, Puga CH, San José C, González-Benito J. Effect of the presence of titania nanoparticles in the development of *Pseudomonas fluorescens* biofilms on LDPE. *RSC Adv* 2014;4:51451–8. doi:10.1039/C4RA09642H.
- [14] Wang RM, Wang BY, He YF, Lv WH, Wang JF. Preparation of composited Nano-TiO₂ and its application on antimicrobial and self-cleaning coatings. *Polym Adv Technol* 2010;21:331–6. doi:10.1002/pat.1432.
- [15] Chawengkijwanich C, Hayata Y. Development of TiO₂ powder-coated food packaging film and its ability to inactivate *Escherichia coli* in vitro and in actual tests. *Int J Food Microbiol* 2008;123:288–92. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2007.12.017.
- [16] Buzarovska A, Grozdanov A. Biodegradable poly (L-lactic acid)/TiO₂ nanocomposites : thermal properties and degradation. *J Appl Polym Sci* 2012. doi:10.1002/app.34729.
- [17] Man C, Zhang C, Liu Y, Wang W, Ren W, Jiang L, et al. Poly (lactic acid)/titanium dioxide composites: preparation and performance under ultraviolet irradiation. *Polym Degrad Stab* 2012;97:856–62. doi:10.1016/j.polymdegradstab.2012.03.039.
- [18] Kim TK, Lee MN, Lee SH, Park YC, Jung CK, Boo JH. Development of surface coating technology of TiO₂ powder and improvement of photocatalytic activity by surface modification. *Thin Solid Films* 2005;475:171–7. doi:10.1016/j.tsf.2004.07.021.



- [19] Brady GS. Materials Handbook. 10th ed. New York: McGraw-Hill; 1971.
- [20] Thamaphat K, Limsuwan P, Ngotawornchai B. Phase characterization of TiO₂ powder by XRD and TEM. *Kasetsart J (Nat Sci)* 2008;42:357–61.
- [21] García Rodríguez N. Desarrollo de nuevos aceros ferríticos ODS para aplicaciones nucleares. Universidad Carlos III de Madrid, 2014.
- [22] González-Benito J, Castillo E, Caldito JF. Coefficient of thermal expansion of TiO₂ filled EVA based nanocomposites. A new insight about the influence of filler particle size in composites. *Eur Polym J* 2013;49:1747–52.
doi:10.1016/j.eurpolymj.2013.04.023.
- [23] Bauer AW, Perry DM, Kirby WMM. Single-Disk Antibiotic-Sensitivity Testing of Staphylococci. *AMA Arch Intern Med* 1959;104:208–16.
doi:10.1001/archinte.1959.00270080034004.
- [24] Bauer AW, Kirby WMM, Sherris JC, Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am J Clin Pathol* 1966;36:493–6.
- [25] Higson SPJ. Química analítica. 1ª ed. México: McGraw-Hill; 2007.
- [26] Di Paola A, Cufalo G, Addamo M, Bellardita M, Campostrini R, Ischia M, et al. Photocatalytic activity of nanocrystalline TiO₂ (brookite, rutile and brookite-based) powders prepared by thermohydrolysis of TiCl₄ in aqueous chloride solutions. *Colloids Surfaces A Physicochem Eng Asp* 2008;317:366–76.
doi:10.1016/j.colsurfa.2007.11.005.
- [27] Buasri A, Chaityut N, Kristsanakun C, Phatkun C, Khunsri T. Preparation and properties of nanocomposites based on poly(lactic acid) and modified TiO₂. *Adv Mater Res* 2012;463-464:519–22. doi:10.4028/www.scientific.net/AMR.463-464.519.
- [28] Luo YB, Wang XL, Xu DY, Wang YZ. Preparation and characterization of poly(lactic acid)-grafted TiO₂ nanoparticles with improved dispersions. *Appl Surf Sci* 2009;255:6795–801. doi:10.1016/j.apsusc.2009.02.074.
- [29] Deka BK, Maji TK. Effect of TiO₂ and nanoclay on the properties of wood polymer nanocomposite. *Compos Part A* 2011;42:2117–25.
doi:10.1016/j.compositesa.2011.09.023.
- [30] Chieng BW, Ibrahim NA, Yunus WMZW, Hussein MZ. Poly(lactic

- acid)/Poly(ethylene glycol) Polymer Nanocomposites: Effects of Graphene Nanoplatelets. *Polymers* (Basel) 2014;6:93–104. doi:10.3390/polym6010093.
- [31] Fambri L, Migliaresi C. Crystallization and Thermal Properties. In: Auras R, Lim L-T, Selke SEM, Tsuji H, editors. *Poly(Lactic Acid) Synth. Struct. Prop. Process. Appl.*, New Jersey: Wiley; 2010, p. 113–24.
- [32] Pillin I, Montrelay N, Bourmaud A, Grohens Y. Effect of thermo-mechanical cycles on the physico-chemical properties of poly(lactic acid). *Polym Degrad Stab* 2008;93:321–8. doi:10.1016/j.polymdegradstab.2007.12.005.
- [33] Carrasco F, Pagès P, Gámez-Pérez J, Santana OO, MasPOCH ML. Processing of poly(lactic acid): Characterization of chemical structure, thermal stability and mechanical properties. *Polym Degrad Stab* 2010;95:116–25. doi:10.1016/j.polymdegradstab.2009.11.045.
- [34] Luo Y-B, Li W-D, Wang X-L, Xu D-Y, Wang Y-Z. Preparation and properties of nanocomposites based on poly(lactic acid) and functionalized TiO₂. *Acta Mater* 2009;57:3182–91. doi:10.1016/j.actamat.2009.03.022.
- [35] Wang WW, Man CZ, Zhang CM, Jiang L, Dan Y, Nguyen TP. Stability of poly(L-lactide)/TiO₂ nanocomposite thin films under UV irradiation at 254 nm. *Polym Degrad Stab* 2013;98:885–93. doi:10.1016/j.polymdegradstab.2013.01.003.
- [36] Ke K, Wen R, Wang Y, Yang W, Xie BH, Yang MB. Crystallization behavior of poly(vinylidene fluoride)/multi-walled carbon nanotubes nanocomposites. *J Mater Sci* 2011;46:1542–50. doi:10.1007/s10853-010-4959-5.
- [37] Liu M, Cheng Z, Yan J, Qiang L, Ru X, Liu F, et al. Preparation and characterization of TiO₂ nanofibers via using polylactic acid as template. *J Appl Polym Sci* 2013;128:1095–100. doi:10.1002/app.38166.
- [38] Selvin TP, Kuruvilla J, Sabu T. Mechanical properties of titanium dioxide-filled polystyrene microcomposites. *Mater Lett* 2004;58:281–9. doi:10.1016/S0167-577X(03)00470-1.
- [39] Nguyen VG, Thai H, Mai DH, Tran HT, Tran DL, Vu MT. Effect of titanium dioxide on the properties of polyethylene/TiO₂ nanocomposites. *Compos Part B* 2013;45:1192–8. doi:10.1016/j.compositesb.2012.09.058.
- [40] Czaczyk K, Myszka K. Biosynthesis of extracellular polymeric substances (EPS) and



- its role in microbial biofilm formation. *Polish J Environ Stud* 2007;16:799–806.
- [41] Sheng G-P, Yu H-Q, Li X-Y. Extracellular polymeric substances (EPS) of microbial aggregates in biological wastewater treatment systems: A review. *Biotechnol Adv* 2010;28:882–94. doi:10.1016/j.biotechadv.2010.08.001.
- [42] Liang Z, Li W, Yang S, Du P. Extraction and structural characteristics of extracellular polymeric substances (EPS), pellets in autotrophic nitrifying biofilm and activated sludge. *Chemosphere* 2010;81:626–32. doi:10.1016/j.chemosphere.2010.03.043.
- [43] Ni B-J, Fang F, Xie W-M, Sun M, Sheng G-P, Li W-H, et al. Characterization of extracellular polymeric substances produced by mixed microorganisms in activated sludge with gel-permeating chromatography, excitation–emission matrix fluorescence spectroscopy measurement and kinetic modeling. *Water Res* 2009;43:1350–8. doi:10.1016/j.watres.2008.12.004.
- [44] Zhukova L V., Kiwi J, Nikandrov V V. TiO₂ nanoparticles suppress *Escherichia coli* cell division in the absence of UV irradiation in acidic conditions. *Colloids Surfaces B Biointerfaces* 2012;97:240–7. doi:10.1016/j.colsurfb.2012.03.010.

Capítulo 6

Sistema PLA/TiO₂: Estudio estructural y evaluación de la dinámica del PLA en materiales nanocompuestos PLA/TiO₂

6.1	Introducción	6-3
6.2	Parte experimental.....	6-7
6.2.1	Preparación de muestras.....	6-7
6.2.2	Métodos y técnicas instrumentales	6-7
6.2.2.1	Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier en la región del infrarrojo cercano, FT-NIR	6-8
6.3	Resultados y discusión	6-8
6.4	Conclusiones parciales	6-29
	REFERENCIAS	6-31



6.1.- Introducción

Cuando ciertas nanopartículas se incorporan dentro de la matriz de un polímero los nanocompuestos resultantes pueden exhibir propiedades mejoradas o únicas en comparación con el polímero puro. Sin embargo, muchas veces es realmente difícil entender el origen real de estas nuevas propiedades ya que no está claro si provienen de la sola presencia de las partículas o de las interacciones específicas entre las nanopartículas y la matriz del polímero o de una combinación de ambas.

Probablemente, la forma más fácil de interpretar las propiedades físico-químicas asociadas a la influencia de la presencia de un nanorelleno en la matriz polimérica es asegurar dispersiones uniformes de las nanopartículas, pues de esta manera se esperan obtener mejores propiedades en el polímero. No obstante, incluso con una dispersión uniforme de las nanopartículas hay múltiples factores interrelacionados que pueden contribuir a las propiedades finales de un nanocompuesto como son: i) la naturaleza de los constituyentes (polímero y partículas); ii) la composición del nanocompuesto; iii) las interacciones específicas existentes entre los componentes; iv) los cambios morfológicos inducidos durante el procesado por la presencia de las partículas; v) el tamaño y forma de las partículas; etc. [1–5].

En general, el tamaño de las partículas y la dispersión son aspectos críticos durante la modificación de las propiedades de los materiales compuestos. Por esta razón, uno de los principales puntos básicos para comprender las propiedades de los polímeros y su comportamiento es conocer la dinámica molecular de las cadenas. Algunos estudios señalan que el movimiento de la cadena macromolecular en alguna parte puede verse restringido debido a la presencia de las nanopartículas [6]. Esta dinámica está directamente relacionada con las interacciones intra e intermoleculares. Por tanto, su buen conocimiento puede ayudar a comprender fenómenos tales como el envejecimiento y como éste puede influir en las propiedades físicas, mecánicas y el procesado de polímeros. Uno de los medios para realizar estudios de lo anterior es la espectroscopía molecular. En particular, las técnicas espectroscópicas vibracionales son

de mucha utilidad para estudiar las estructuras moleculares, así como cambios en el entorno inmediato a las macromoléculas y las interacciones intra o intermoleculares [2,4,7]. Hay varios autores que han investigado las interacciones intra e intermoleculares y las transiciones térmicas en polímeros por espectroscopia infrarroja, IR, siendo una de las técnicas más conocidas y económicas para este propósito. A través del conocimiento de las bandas de absorción en el infrarrojo es posible hacer un seguimiento en tiempo real de los cambios observados en los grupos funcionales que dan lugar a interacciones específicas [8]. Por su parte, el empleo de la espectroscopía infrarroja permite no sólo el estudio de transiciones térmicas (temperatura de transición vítrea, cristalización y fusión) en polímeros sino que también aporta información en relación a los cambios conformacionales e interacciones a escala molecular que ocurren durante una transición térmica. Por lo tanto, es razonable proponer el uso de la espectroscopía infrarroja para realizar estudios de los cambios en la dinámica molecular y la estructura de polímeros en presencia de nanopartículas, para así comprender el efecto de la presencia de las mismas en los cambios observados en el polímero.

Aunque existen otros métodos y técnicas que pueden dar información sobre la dinámica de un polímero tales como calorimetría diferencial de barrido, DSC, y análisis mecánico-dinámico, DMA, entre otros, la información a escala molecular se obtiene de forma indirecta. Por esta razón, se buscan métodos experimentales o técnicas que permitan la obtención de información directa a escala molecular. Estos métodos, más económicos y de fácil manipulación, permiten realizar seguimientos de la evolución de bandas infrarrojas de un polímero en función de la temperatura o el tiempo. Por ejemplo, la espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier, FTIR, ha sido ampliamente utilizada para realizar seguimientos de reacciones de curado en materiales compuestos poliméricos mediante el análisis de la absorbancia asociada a bandas de distintos grupos en función del tiempo y de la temperatura [9,10].

Por otro lado, en espectroscopía de polímeros es común estudiar la forma y anchura de las bandas de absorción y de emisión, ya que están relacionadas con la distribución de los grupos absorbentes o emisores en los diferentes entornos moleculares en los que se



pueden encontrar. En particular, tanto en absorción como en emisión, las bandas reflejan la superposición de diferentes frecuencias resultado de las distintas interacciones existentes con el entorno. Por ejemplo, cambios en la densidad de la muestra, es decir, del índice de refracción, puede cambiar las intensidades de las bandas de infrarrojos como ocurre cuando hay un simple aumento de la temperatura; sin embargo también se pueden producir cambios en la conformación que pueden conducir a mayores cambios de intensidad o absorbancia [2,11]. Recientemente, el análisis de bandas de absorción mediante FTIR se ha utilizado en el estudio de los cambios que acompañan a las conformaciones interfaciales y la estructura molecular en nanocompuestos de PMMA y sílice [5,11].

Por su parte, entre las diferentes regiones del espectro infrarrojo, los espectros en la región media, son más fáciles de interpretar ya que, en general, la asignación de las bandas corresponde a los modos normales de vibración. Sin embargo, en la región media se requiere el uso de películas muy delgadas con el fin de evitar la saturación del detector. Esta limitación podría dificultar los estudios en el momento de extrapolarlos a muestras más gruesas. En el caso de trabajar con materiales compuestos poliméricos esto también limita el camino de preparación de las muestras y por lo tanto muchas veces es imposible imitar el material real a partir de su preparación utilizando el procesado final utilizado en la práctica para una determinada aplicación [2].

Para superar este problema, se utiliza la espectroscopia infrarroja por transmisión en la región del infrarrojo cercano (NIR), ya que se puede utilizar una película de material relativamente gruesa al ser la mayoría de las veces necesaria para obtener una absorbancia considerable que pueda ser detectable o medible. En este caso, el único inconveniente es la asignación de las bandas porque en la región del infrarrojo cercano sólo aparecen sobretonos y bandas de combinación. Sin embargo, innumerables trabajos de investigación que han utilizado la espectroscopia infrarroja en la región cercana han demostrado que se puede obtener información valiosa sobre la estructura y cambios conformacionales de muchas moléculas [12–15]. Además, el uso de la espectroscopia infrarroja en la región cercana en conjunto con la espectroscopia de

fluorescencia han permitido realizar estudios en diferentes procesos, como reacciones químicas [16,17], separación de fases [18] o absorción de agua [19].

Por otro lado, existen diferentes maneras de mejorar indirectamente la resolución espectroscópica, siendo la espectroscopia de correlación en dos dimensiones (2D correlation spectroscopy) probablemente una de las mejores alternativas. La teoría de la espectroscopía de correlación en dos dimensiones (Generalized two-dimensional 2D correlation spectroscopy) fue desarrollada por Noda en 1993 [20] como una extensión de la espectroscopía de correlación 2D originalmente propuesta por él mismo [21–23]. Mediante el uso de la espectroscopia de correlación 2D, es posible mejorar la resolución espectral de las bandas individuales, pues este tipo de análisis suele revelar detalles sobre interacciones específicas y cambios conformacionales que no son fácilmente detectables en los espectros tradicionales de una dimensión. En el análisis 2D, se generan dos tipos de mapas de correlación, los síncronos y los asíncronos, que se generan a partir de un conjunto de espectros dinámicos obtenidos a partir de fluctuaciones de señales espectroscópicas. El método 2D puede trabajar con las señales fluctuantes como una función arbitraria del tiempo o cualquier otra variable física tales como la temperatura, la presión o incluso la concentración [24–26].

La correlación de picos que aparecen en los mapas síncronos y asíncronos representa tendencias en las variaciones en fase y fuera de fase de las intensidades de las bandas correspondientes. La espectroscopia de correlación 2D se ha utilizado ampliamente en el análisis de espectros de IR de polímeros. El uso del método 2D para analizar espectros dependientes de la temperatura obtenidos “*in situ*” durante el proceso de calentamiento mejora significativamente la resolución espectral, revela detalles sobre las interacciones específicas e información acerca de la intensidad espectral y cambios que tienen lugar durante la medición del análisis de los espectros asíncronos [27].

En este apartado, mediante espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier en la región del infrarrojo cercano, FT-NIR, y en modo de transmisión se estudió el efecto de la presencia de nanopartículas de TiO₂ en la dinámica del PLA. Las partículas de TiO₂



fueron introducidas en la matriz polimérica del PLA mediante el método de “casting” preparación de suspensiones en una disolución y posterior evaporación del disolvente.

En particular, las interacciones específicas entre el nanorelleno y el polímero se determinarán mediante el análisis de espectros infrarrojos en la región del cercano, FT-NIR. La evolución de la absorbancia de ciertas bandas, la energía promedio asociada a las transiciones que dan lugar a absorción y la espectroscopia de correlación en dos dimensiones o análisis bidimensional (2D) en función de la temperatura y del contenido de TiO₂ se utilizaron para estudiar con precisión las interacciones, la dinámica del PLA y sus cambios.

6.2.- Parte experimental

6.2.1.- Preparación de muestras

La preparación de las muestras estudiadas en este apartado se realizó según el protocolo descrito en el apartado 5.1.1.

La lista de los materiales estudiados junto con los códigos o nombres abreviados se encuentran recogidos en la Tabla 5.2. En la Tabla 5.1 se recogen los espesores medidos de las películas preparadas obteniéndose un valor promedio de aproximadamente 190 μm . La película de PLA sin relleno se utilizó como muestra de referencia y se nombra como PLA-0.

6.2.2.- Métodos y técnicas instrumentales

Se realizó análisis térmico mediante calorimetría diferencial de barrido (DSC) y estudios estructurales y sobre la dinámica macromolecular mediante espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier en la región del infrarrojo cercano (FT-NIR). Las condiciones de medida utilizadas en esta sección, se llevaron a cabo según la descripción mostrada en el capítulo 3.

6.2.2.1.- Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier en la región del infrarrojo cercano, FT-NIR

Como se explicó en el apartado 3.1.2 de esta investigación, se realizaron estudios estructurales y dinámicos por FT-NIR, utilizando un espectrómetro infrarrojo Perkin Elmer Spectrum GX. Los espectros de transmisión FT-NIR para cada muestra se registraron en función de la temperatura. Las muestras se colocaron entre dos portaobjetos de vidrio en el interior de un horno SPECAC con control de temperatura. Seguidamente el conjunto horno-muestra se colocó en la cámara de muestra del espectrómetro infrarrojo realizando un calentamiento de la muestra de 30 a 170 °C a una velocidad de 2 °C/min para finalmente mantenerla a 170 °C durante 2 min. Las condiciones de adquisición de los espectros fueron tales que se realizaron 20 barridos entre 5000 a 4000 cm⁻¹ con una resolución de 4 cm⁻¹. La temperatura se controló mediante un controlador de temperatura convencional con una precisión de ±1 °C.

6.3.- Resultados y discusión

Los resultados procedentes de los estudios por espectroscopia infrarroja en el rango medio así como los obtenidos por calorimetría diferencial de barrido para las películas preparadas mediante “casting” se discutieron en el apartado 5.1.1.

En el caso del PLA, las bandas de absorción más importantes que se producen en la región del infrarrojo cercano, NIR, están relacionadas con sobretonos y bandas de combinación de vibraciones fundamentales de los grupos -CH₃, C=O y C-O-C [28], sin embargo, hasta la fecha la asignación de las bandas en la región del infrarrojo cercano para el PLA no se encuentran totalmente identificadas [29]. Por lo tanto, es necesario realizar en primer lugar una asignación realista de las bandas que podrían ser útiles para el posterior análisis de la dinámica de PLA por efecto de la temperatura y bajo la influencia de la presencia de nanopartículas de TiO₂.



Efecto de la temperatura

La Figura 6.1 (a) muestra los espectros de infrarrojo cercano de una película de PLA puro a diferentes temperaturas. Se puede observar que las bandas en el NIR no muestran grandes cambios en función de la temperatura. Como consecuencia de esto y con el fin de elegir convenientemente las bandas donde ocurren los cambios más significativos, se realizó la sustracción entre los espectros a una determinada temperatura y el espectro obtenido a temperatura ambiente (Figura 6.1b).

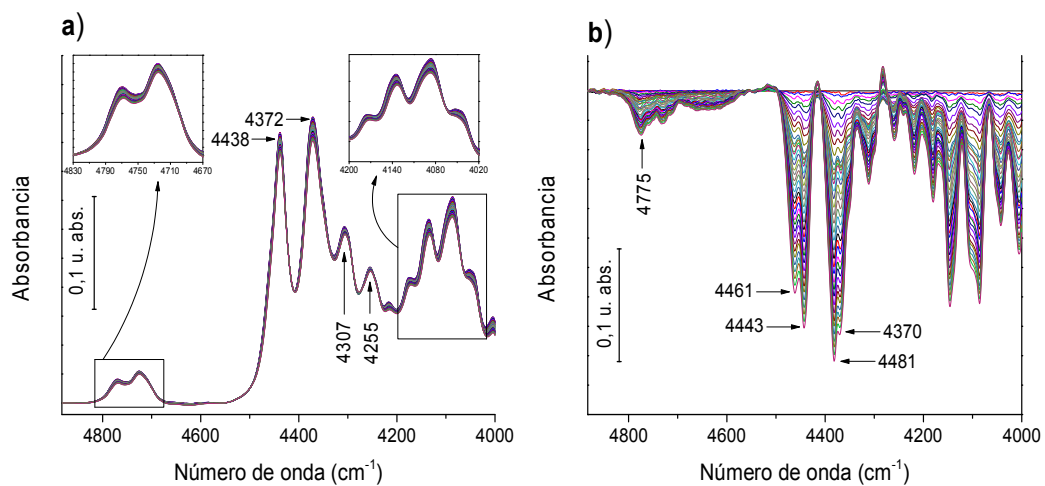


Figura 6.1.- a) Espectro en la región del infrarrojo cercano para PLA bajo diferentes temperaturas y b) espectro obtenido de la sustracción entre el espectro a una determinada temperatura y el espectro a temperatura ambiente.

Por otro lado, en la Figura 6.1 (b) se observa claramente en los espectros algunas divisiones o desdoblamiento de bandas. La banda a 4438 cm⁻¹ se divide en dos bandas una a 4461 y otra a 4443 cm⁻¹ durante el calentamiento y la banda a 4372 cm⁻¹ se divide en las bandas centradas a 4381 y a 4370 cm⁻¹, respectivamente. En otras bandas no se ve con claridad este desdoblamiento, sin embargo sí se observa una ligera distorsión en su forma. Por lo tanto, estos resultados indican que el calentamiento induce cambios estructurales en el polímero que se ven reflejados en la posición relativa de las bandas de absorción de los grupos, algo que puede estar asociado a interacciones específicas y consecuentemente, que debe afectar a la energía necesaria para activar las vibraciones.

Teniendo en cuenta las bandas ya asignadas en anteriores investigaciones para el PLA amorfo y semicristalino en la región de infrarrojo medio y la aparición de desdoblamientos en dicha región debido a variaciones de la contribución de las dos fases, amorfas y cristalinas parece razonable pensar que la división de las bandas en el infrarrojo cercano proviene de los mismos cambios. De ahí que sea necesario primero realizar una asignación de bandas en el rango cercano.

En concreto dichas asignaciones fueron las siguientes:

- i) las bandas encontradas entre 4830 y 4670 cm^{-1} se pueden asociar a las combinaciones de tensión asimétrica CH con las de tensión C=O;
- ii) la banda a 4438 cm^{-1} se puede asignar a la combinación de la tensión asimétrica CH₃ con la deformación asimétrica CH₃;
- iii) la banda a 4372 cm^{-1} se puede asignar a la combinación de la tensión simétrica CH₃ con la flexión asimétrica CH₃;
- iv) la banda a 4307 cm^{-1} se puede asignar a la combinación de la tensión simétrica CH₃ con la flexión asimétrica CH₃ aunque existe otra posibilidad de combinación de la tensión asimétrica CH₃ con la deformación en aleteo CH;
- v) la banda que se encuentra a 4255 cm^{-1} se puede asignar a la combinación de tensión simétrica CH₃ con la deformación simétrica CH₃.

Estas bandas han sido asignadas a partir de la caracterización por espectroscopia infrarroja realizada en el rango medio para el PLA puro (véase Tabla 3.1). Para facilitar su manejo en posteriores discusiones estas asignaciones se recogen en la Tabla 6.1.


Tabla 6.1.- Tabla de bandas de combinación vibracional de Ácido Poliláctico, PLA.

Posición calculada (cm ⁻¹)	Posición observada (cm ⁻¹)	Asignación de bandas de combinación
4775	4770	$\nu_{as}CH_3 + \nu C=O$ (1780)
4775	4725	$\nu_{as}CH_3 + \nu C=O$ (1740)
4635		$\nu_sCH_3 + \nu C=O$
4420	4438	$\nu_{as}CH_3 + \delta_{as}CH_3$
4351	4372	$\nu_{as}CH_3 + \delta_sCH_3$
4330	4307	$\nu_sCH_3 + \delta_{as}CH_3$
4330		$\nu_{as}CH_3 + \delta(CH)$ aleteo
4260	4255	$\nu_sCH_3 + \delta_sCH_3$
4240		$\nu_sCH_3 + \delta(CH)$ aleteo
4233	4217	$\nu_{as}CH_3 + (\nu COC + \delta CH)$
4180	4175	$\nu_{as}CH_3 + (\nu COC + r_{as}CH_3)$ $\nu CH_3 + \delta CH$
4143	4135	$\nu_sCH_3 + (\nu COC + \delta CH)$
4098	4086	$\nu_{as}CH_3 + r_{as}CH_3$
4090		$\nu_sCH_3 + (\nu COC + r_{as}CH_3)$
4065	4051	$\nu_{as}CH_2 + \nu COC$

Es bien conocido que la información sobre el orden específico de los cambios en la intensidad espectral y que tienen lugar durante las mediciones espectrales se pueden estudiar a partir del análisis de espectros y para ello. En este sentido a partir de ahora se utilizará el método de análisis de correlación de espectros 2D [30,31].

La intensidad del espectro de correlación 2D síncrono $\Phi(\nu_1, \nu_2)$ representa los cambios simultáneos o coincidentes de las intensidades espectrales medidas a dos números de onda, ν_1 y ν_2 . Por otro lado, un espectro asíncrono $\Psi(\nu_1, \nu_2)$, representa cambios secuenciales o sucesivos de intensidades espectrales medidas a dos números de onda, ν_1 y ν_2 [32,33].

Para analizar los espectros 2D mediante este estudio se emplearon las reglas de Noda [20,23,34], mostradas en la Tabla 6.2.

Tabla 6.2.- Orden secuencial de la regla de Noda cuando $\nu_1 > \nu_2$.

Síncrono	Interpretación	Asíncrono	Interpretación
+	ν_1 y ν_2 cambian en la misma dirección (los dos aumentan o los dos disminuyen de intensidad)	+	El cambio en ν_1 es más rápido que a ν_2
+	ν_1 y ν_2 cambian en la misma dirección (los dos aumentan o los dos disminuyen de intensidad)	-	El cambio en ν_1 es más lento que a ν_2
-	ν_1 y ν_2 cambian en direcciones opuestas (uno aumenta y otro disminuye)	-	El cambio en ν_1 es más rápido que a ν_2
-	ν_1 y ν_2 cambian en direcciones opuestas (uno aumenta y otro disminuye)	+	El cambio en ν_1 es más lento que a ν_2

Dado que la correlación de espectros 2D es una función de dos números de onda independientes, la correlación de los picos se representa como (ν_1, ν_2) representando la región más oscura o sombreada en los gráficos los picos negativos y la región más clara los picos positivos.

De acuerdo a la regla de Noda, y como se detalla en la Tabla 6.2, cuando la señal de un síncrono es positivo, la señal de un pico asíncrono es positivo si la velocidad de cambio a número de ondas ν_1 es mayor que a ν_2 . Por otra parte, cuando la señal de un pico síncrono es negativo, la señal de un pico asíncrono es negativo si el cambio a número de ondas ν_2 es más lento que a ν_1 . Esta regla se invierte si la señal correspondiente a un pico síncrono es negativo, es decir, un pico síncrono positivo indica que la variación de intensidad en ν_1 y en ν_2 van en la misma dirección mientras que un pico síncrono negativo indica que los cambios se dan en direcciones opuestas, $\Phi(\nu_1, \nu_2) < 0$ [34,35].

Una vez conocido todo lo anterior se realizó un análisis bidimensional (2D correlation spectroscopy) de las bandas en función de la temperatura para cada muestra analizada.



Para facilitar la tarea del análisis de intensidades se utilizó una escala de colores. En el caso de espectros 2D síncronos la escala varía desde el blanco, la intensidad más débil, al rojo, la intensidad más fuerte y en el caso de espectros 2D asíncronos desde el azul al rojo donde inicialmente hay un cambio del azul al blanco como intermedio para la intensidad más débil y del blanco al rojo para la intensidad más fuerte.

En la Figura 6.2 se muestra el espectro de correlación síncrono y asíncrono para el PLA considerando la región que va de 4830 a 4410 cm⁻¹, y que se obtiene a partir del espectro de la Figura 6.1.

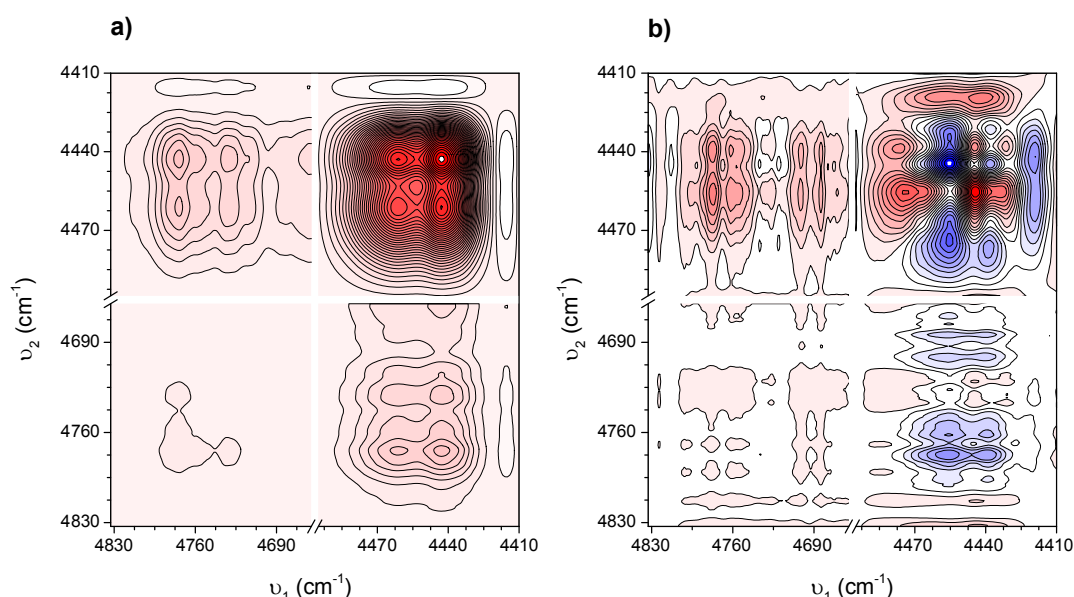


Figura 6.2.- Diagramas de correlación de espectros 2D para el PLA en la región de 4830-4410 cm⁻¹ en función de la temperatura: a) síncrono y b) asíncrono.

Siguiendo la regla de Noda para un espectro asíncrono, se esperaba obtener más información sobre el origen de las bandas localizadas a 4770, 4725 y 4438 cm⁻¹. En el espectro síncrono que se muestra en la Figura 6.2 (a), además de las tres bandas mencionadas anteriormente, se observa claramente la posibilidad de deconvolucionar de manera efectiva otra banda situada aproximadamente a 4461 cm⁻¹. De acuerdo con la señal de los picos observados en la Figura 6.2 (a), las intensidades de todas las bandas tienen la misma tendencia (una disminución como se pudo observar en la Figura 6.1).

Esta tendencia ya se explicó en términos de cambios de densidad, sin embargo, dependiendo de la fase considerada (amorfa o cristalina), los cambios podrían ser más rápidos o más lentos pues el cambio de densidad de la fase amorfa debe ser más rápido que el cambio de densidad de los cristales. Teniendo en cuenta lo anterior, es decir, que la densidad de la fase amorfa debe cambiar más rápido con la temperatura, los espectros 2D asíncronos deberían proporcionar información suficiente para identificar las bandas relacionadas con una fase en particular.

En el espectro asíncrono de la Figura 6.2 (b), se puede observar un pico entrecruzado no esperado si se tiene en cuenta el espectro síncrono de la Figura 6.2 (a), donde la banda localizada próxima a 4690 cm⁻¹ se correlaciona con aquellas de la región entre 4410-4500 cm⁻¹. De hecho, en la Figura 6.2 (a) no se observan correlaciones de esta banda a 4690 cm⁻¹, lo que está de acuerdo con estas observaciones.

Además, se observa con facilidad la llamada "forma de mariposa" asociada a un desdoblamiento aparente de la banda a 4438 cm⁻¹. Por lo general, la aparición de este tipo de dibujo en un espectro asíncrono se atribuye al desplazamiento de un pico unido a cambios de intensidades [36,37]. Teniendo en cuenta lo anterior, se puede decir que no ocurre un desdoblamiento real de la banda 4438 cm⁻¹.

Por otro lado, en el espectro asíncrono de la Figura 6.2 (b), se puede obtener una mejor información debido a la buena separación observada de los picos solapados. De acuerdo a la regla de Noda, a partir de la Figura 6.2 (a) y (b) se observó que para $\Phi(4770, 4461 \text{ y } 4443) > 0$, $\Phi(4725, 4461 \text{ y } 4443) < 0$, $\Psi(4770, 4460 \text{ y } 4443) > 0$, $\Psi(4725, 4461 \text{ y } 4443) < 0$. Por tanto, los cambios de intensidades para las bandas 4770 y 4725 cm⁻¹ ocurren antes que para las bandas 4461 y 4443 cm⁻¹, respectivamente. En segundo lugar, en la Figura 6.2 (b) no se observaron picos solapados entre las bandas 4770 y 4725 cm⁻¹. Estos cambios indican que la correlación entre las dos bandas es síncrona, pues ambas cambian en la misma dirección. Todo lo anterior apunta a que las absorbancias a 4770 y 4725 cm⁻¹ son producto de los modos vibracionales de grupos localizados en una misma región o fase porque, en cierta forma, son más sensibles a los cambios de temperatura.



Además, se podría decir que dichas vibraciones se asocian a la fase amorfa o poseen mayor participación pues son las que presentan un cambio más rápido, paralelo al de la densidad, con la temperatura. De esta manera es posible estudiar la dinámica del polímero bajo el efecto del aumento de la temperatura, representando la absorbancia y los desplazamientos de las bandas en función de la temperatura. A partir de estas representaciones se puede obtener información a escala molecular sobre las diferentes transiciones térmicas. Además, dependiendo de la sensibilidad de la banda con la temperatura para una transición térmica, se podrían extraer interesantes conclusiones en relación a los grupos que participan en una determinada fase (cristalina o amorfa).

En la Figura 6.3 se representa la absorbancia integrada en función de la temperatura para ambas bandas síncronas a 4770 y 4725 cm⁻¹ así como el primer momento asociado a la distribución de las energías de las dos bandas en función de la temperatura para el PLA.

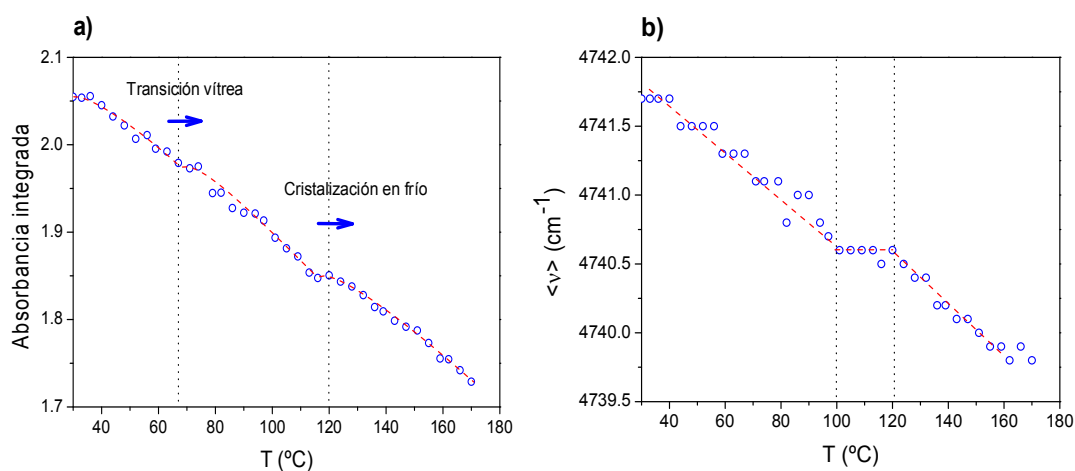


Figura 6.3.- a) Diagrama de la absorbancia integrada en función de la temperatura y b) el primer momento $\langle \nu \rangle$, en función de la temperatura para las bandas 4770 y 4725 cm⁻¹ para el PLA. (Nota: los cálculos se realizaron considerando ambas bandas como una banda única).

En general la absorbancia disminuye con la temperatura (Figura 6.3a). Esta tendencia puede explicarse considerando una reducción de la densidad, que implica una menor concentración de las especies absorbentes. Sin embargo, a temperaturas en torno a 64 °C y 123 °C, se observaron cambios bruscos en la curva con una disminución de la

pendiente. Es importante mencionar que estos valores de temperatura son coincidentes con la relajación entálpica justo después de la temperatura de transición vítrea (T_g) y la temperatura para la que la velocidad de cristalización en frío del PLA puro (durante el calentamiento), como nos demuestran los resultados obtenidos por DSC (véase Tabla 5.4). Cuando estos procesos ocurren se produce un reordenamiento de las cadenas, por consiguiente, en estos puntos y en términos de absorbancia debería haber un aumento que compense la disminución debida al aumento de temperatura, es decir, un mayor orden de las cadenas debería compensar la disminución de densidad debido al aumento de la temperatura.

Por otro lado, el primer momento disminuye muy poco y continuamente con la temperatura (Figura 6.3b), indicativo de un muy pequeño desplazamiento de las bandas a números de onda más bajos. El uso del primer momento de las bandas espectrales permite observar desplazamientos espectrales muy pequeños debido a que se consigue de manera indirecta una mayor precisión, evitando de esta manera las limitaciones impuestas por la resolución de medición del equipo [38]. La variación del primer momento puede estar asociada a un aumento en los niveles de rotación más energéticos del correspondiente estado fundamental de vibración. A este efecto se le denomina habitualmente “bandas calientes” que se desplazan al rojo con respecto a las transiciones fundamentales, es decir, aparecen a números de onda inferiores [2,39]. En la Figura 6.3 (b) se puede observar en el intervalo de temperatura entre 100 y 120 °C un cambio de la tendencia del primer momento con la temperatura y que coincide con el proceso de cristalización en frío.

En la Figura 6.4 se muestra la evolución de la absorbancia integrada y el primer momento de la banda localizada a 4438 cm^{-1} en función de la temperatura para el PLA. Se observaron similares resultados a los obtenidos para las bandas 4770 y 4725 cm^{-1} .

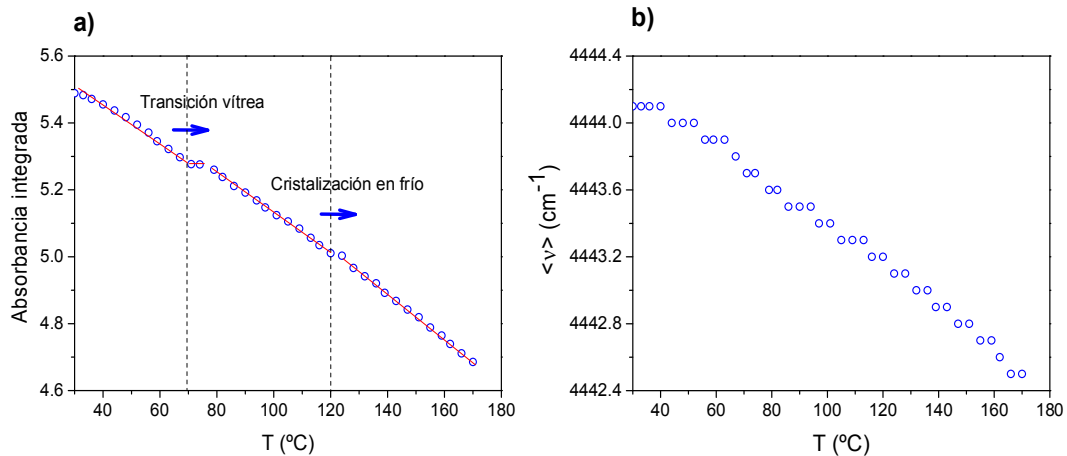


Figura 6.4.- a) Diagrama de la absorbancia integrada en función de la temperatura y b) el primer momento, $\langle v \rangle$, en función de la temperatura para la banda 4438 cm⁻¹ para el PLA.

En la Figura 6.4 (a) se observó una mejor definición en las transiciones térmicas. Estos resultados son los que cabría esperar si se tiene en cuenta que la banda a 4438 cm⁻¹ se produce debido a las vibraciones de los grupos que se encuentran más relacionados con la formación de la fase cristalina por ser más sensible a los cambios producidos en el orden de la cadena macromolecular. La absorción a 4770 y 4725 cm⁻¹ se origina por la combinación de los grupos C=O y CH₃ mientras que en el caso de la absorción a 4438 cm⁻¹ solo participa el grupo metilo. Por lo tanto, parece que el grupo metilo es el principal causante de los cambios en el orden molecular de las cadenas en el PLA. Este argumento coincide con el presentado por Jianming Zhang [40], donde se sugiere que los grupos CH₃ están en estrecho contacto entre las cadenas durante la cristalización. En la Figura 6.4 (b), se pudo observar que el primer momento no parece ser lo suficientemente sensible a las transiciones o relajaciones térmicas del material pues no se observan cambios claros en la pendiente.

Por otro lado, a partir del análisis de los datos de la Figura 6.3 y 6.4, se observó que el cambio relativo en la absorbancia para las bandas a 4770 y 4725 cm⁻¹ en el intervalo de temperatura seleccionado, fue de 15,8%, mientras que para la banda a 4438 cm⁻¹ fue de 15,4%. Este resultado está de acuerdo con lo que se observó en los espectros de

correlación 2D de la Figura 6.2, donde los cambios de absorbancia para las bandas 4770 y 4725 cm⁻¹ se producen más rápido que los de la banda centrada a 4438 cm⁻¹.

El resto de las bandas mostraron similares resultados excepto aquellas localizadas a 4307 y 4255 cm⁻¹ que exhibieron cambios más intensos de absorbancia con la temperatura como se puede observar en la Figura 6.5.

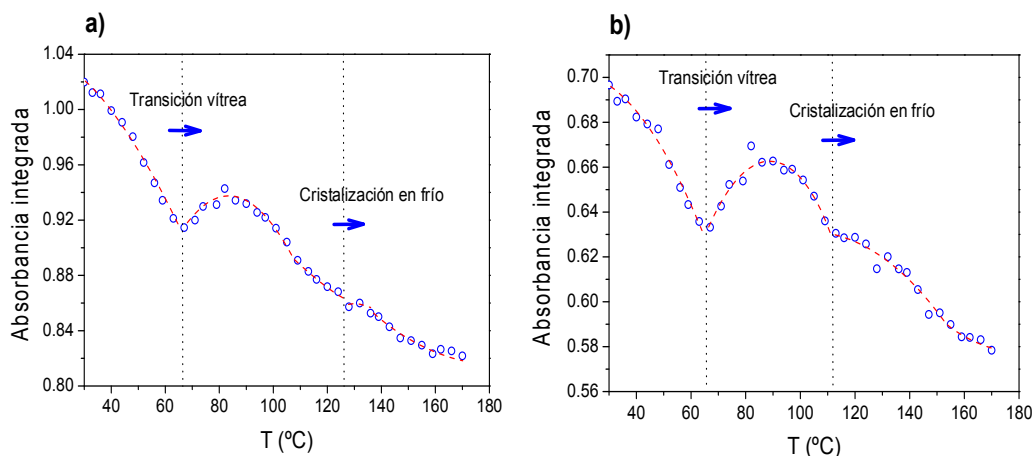


Figura 6.5.- Diagramas de la absorbancia integrada con la temperatura del PLA para las bandas localizadas a: a) 4307 cm⁻¹ y b) 4255 cm⁻¹.

Estas bandas (4307 y 4255 cm⁻¹) parece que poseen una importante contribución en los modos de combinación con la vibración de flexión C-H del carbono terciario. Por lo tanto, se podría decir que las transiciones se producen principalmente debido a los cambios en la conformación de la cadena principal que ocurren cuando la parte más rígida de la unidad monomérica comienza a tener movimientos más libres buscando interacciones más favorables que le permitan estar más ordenada. Es decir, que durante los fenómenos de envejecimiento y/o cristalización en frío debe haber un aumento local en la concentración de grupos C-H debido al ordenamiento de la cadena macromolecular, produciendo un incremento de la absorbancia.

Efecto de la presencia de nanopartículas

Por otra parte, para estudiar la influencia de la presencia de las nanopartículas de TiO₂ a una temperatura específica se podría estudiar también la evolución de la absorbancia,



los desplazamientos de las bandas o la relación de bandas en función de la cantidad de nanopartículas. Sin embargo, teniendo en cuenta la dificultad encontrada a la hora de preparar muestras que contengan exactamente la misma cantidad de material y/o dimensiones (en términos de espesor) habría que utilizar métodos de corrección de espectros, relativamente complejos, para poder hacer comparaciones entre ellos.

Otra manera de proceder a la hora de realizar estos estudios es mediante el empleo de la espectroscopia de correlación 2D pues como ya se mencionó se ha demostrado que su uso mejora de manera efectiva la resolución espectral y revela detalles sobre las interacciones específicas y cambios conformacionales que no se detectan fácilmente en los espectros tradicionales en una dimensión [27]. Por tanto, la espectroscopia de correlación 2D se utilizó para comprender los posibles cambios que surgen en la estructura del PLA debido a las interacciones específicas con nanorellenos, en este caso de TiO₂ con tamaños inferiores a 100 nm.

La espectroscopia de correlación 2D se utilizó para estudiar el efecto de la cantidad de nanopartículas de TiO₂ añadidas a tres temperaturas: 30, 82 y 170 °C, respectivamente. Estas temperaturas fueron seleccionadas por las siguientes razones: i) 30 °C pues es una temperatura que se encuentre por debajo de la temperatura de transición vítrea, T_g , del PLA, ii) 82 °C porque se encuentra por encima de la T_g y por debajo de la temperatura de cristalización en frío, T_{cc} , del PLA y iii) 170 °C que se escogió por ser ligeramente mayor que la temperatura del punto de fusión del PLA (véase anexo 1 ficha técnica del PLA).

La Figura 6.6, 6.7 y 6.8 ilustran los espectros de correlación 2D a la temperatura de 82 °C en tres regiones del infrarrojo cercano, NIR, para los que la variable considerada es el contenido de nanopartículas de TiO₂ (0, 1, 5 y 10%). Para el resto de las temperaturas (30 y 170 °C) se observaron resultados similares.

En la Figura 6.6 se muestra la región entre 4490 y 4330 cm⁻¹ donde se presentan las correlaciones entre las bandas 4438 y 4372 cm⁻¹, mostrando una correlación positiva sin observarse ningún desdoblamiento de bandas.

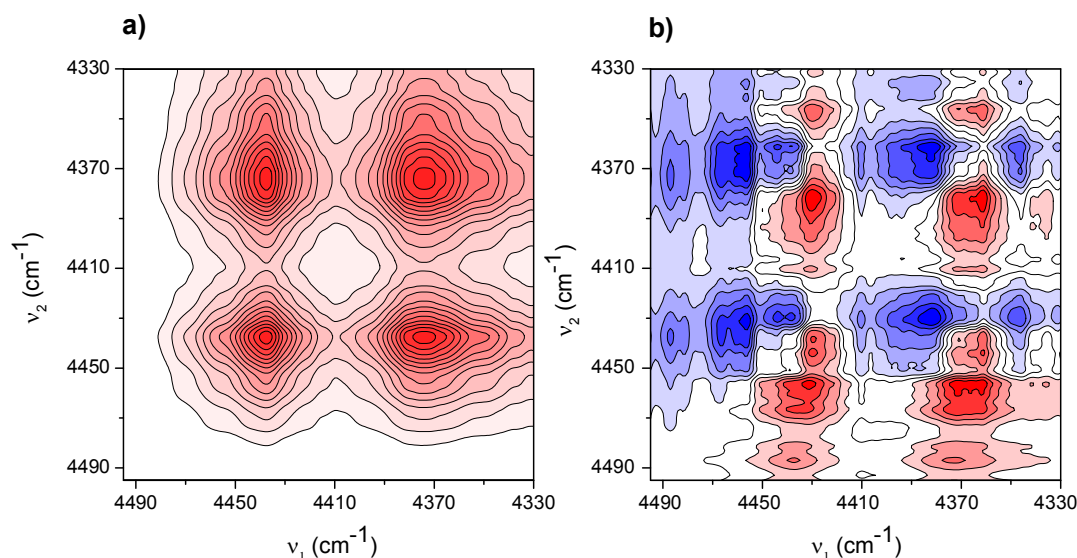


Figura 6.6.- Diagramas de correlación de espectros 2D para el PLA a una temperatura de 82 °C en la región del NIR entre 4490-4330 cm⁻¹ en función del contenido de TiO₂ con tamaño de nanopartículas < 100 nm: a) síncrono y b) asíncrono.

En el espectro asíncrono correspondiente de la Figura 6.6 (b) se observan correlaciones que dan lugar a mapas en forma de mariposa, por lo tanto, se podría decir nuevamente que la pseudo-correlación puede ser debida a ligeros desplazamientos de bandas unido a cambios de intensidad [36,37]. Esto sugiere que no se producen nuevas interacciones específicas con los grupos CH₃ ya que sus modos de vibración parecen variar de la misma manera y sólo se produce una disminución proporcional de la absorbancia debido a una disminución de la concentración de los grupos absorbentes de PLA cuando el contenido de nano partículas de TiO₂ aumenta.

En la Figura 6.7 se presentan las correlaciones obtenidas en función de la cantidad de nanopartículas de TiO₂ (0, 1, 5 y 10%) entre las bandas 4770, 4725 y 4438 cm⁻¹. Se puede observar una correlación positiva entre las bandas sin producirse ningún desdoblamiento de las mismas. Siguiendo las reglas de Noda, a partir de la observación del espectro asíncrono de la Figura 6.7 (b), se podría concluir que los cambios en intensidad de las bandas 4770 y 4725 cm⁻¹ son más rápidos que los de la banda 4438 cm⁻¹. Estos resultados demuestran que la presencia de las nanopartículas de TiO₂ influye de manera distinta sobre el grupo carbonilo (que participa en el modo de combinación cuya



absorción se produce a 4770 y 4725 cm⁻¹) que sobre el grupo metilo. Si el grupo carbonilo del polímero interacciona favorablemente con la superficie de las nanopartículas de TiO₂ se podría esperar una disminución adicional de la absorbancia ya que el cambio en el momento dipolar puede ser menor si se inhibe la vibración de tensión del grupo carbonilo o, dicho con otras palabras, su capacidad de alargamiento en la vibración.

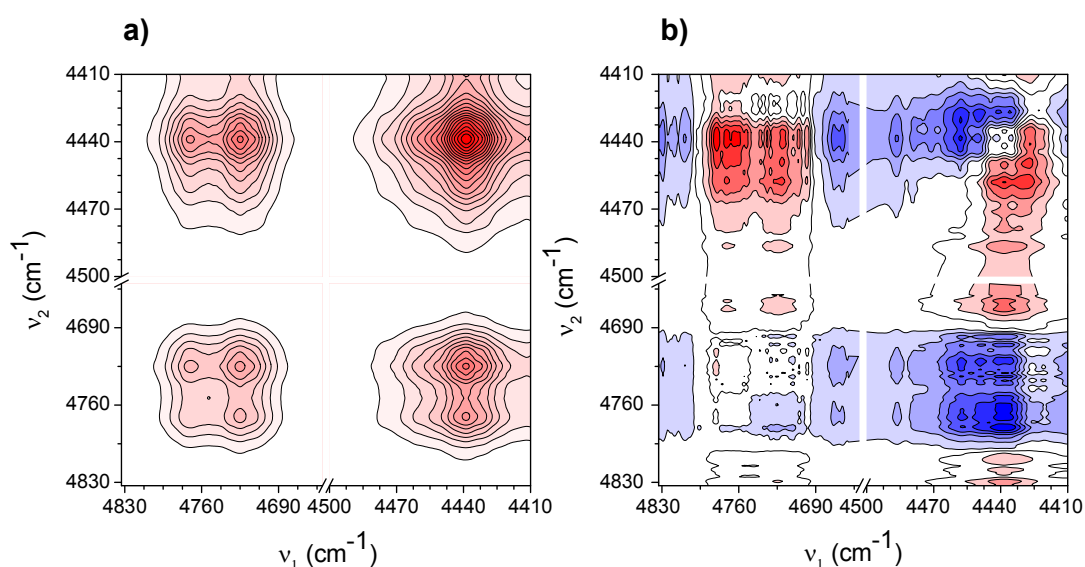


Figura 6.7.- Diagramas de correlación de espectros 2D para el PLA a una temperatura de 82 °C en la región del NIR entre 4830-4410 cm⁻¹ en función del contenido de TiO₂ con tamaño de nanopartículas < 100 nm: a) síncrono y b) asíncrono.

En la Figura 6.8 se consideran las correlaciones entre las bandas a 4770, 4725 y 4372 cm⁻¹. Se puede observar cómo estas bandas se correlacionan de la misma manera a como ocurre entre las bandas de 4770, 4725 y 4438 cm⁻¹ en la Figura 6.7. Teniendo en cuenta que la banda a 4372 cm⁻¹ se produce por la combinación de vibración del grupo metilo al igual que en el caso de la banda a 4438 cm⁻¹, es posible llegar a la misma conclusión, el grupo carbonilo parece interactuar específicamente con las nanopartículas de TiO₂.

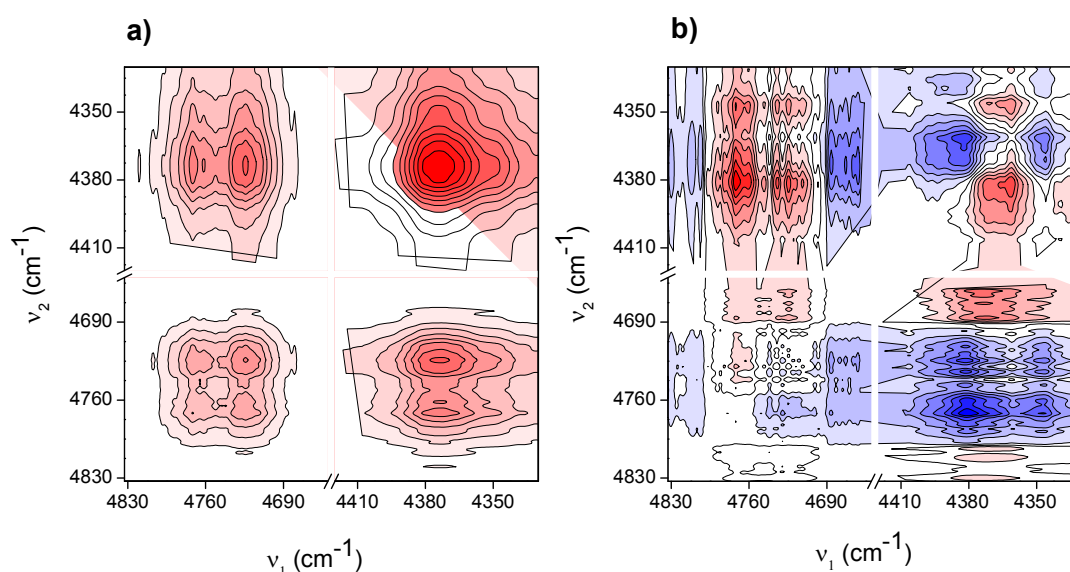


Figura 6.8.- Diagramas de correlación de espectros 2D para el PLA a una temperatura de 82 °C en la región del NIR entre 4830-4330 cm⁻¹ en función del contenido de TiO₂ con tamaño de nanopartículas < 100 nm: a) síncrono y b) asíncrono.

Finalmente, se llevó a cabo un estudio sobre la influencia de las nanopartículas de TiO₂ (< 100 nm) en la dinámica del PLA a partir de los espectros obtenidos en el NIR durante un calentamiento de 30 a 170 °C y a una velocidad de 2 °C/min para los distintos sistemas con diferentes contenidos de TiO₂ (0, 1, 5 y 10%). En este caso, sólo se consideró la absorbancia integrada para las bandas 4770 y 4725, 4438, 4307, 4255 cm⁻¹, cuyos resultados se ilustran en la Figura 6.9.

Independientemente de la banda seleccionada se obtuvieron resultados similares. En general la absorbancia disminuye con la temperatura sin importar el contenido de nanopartículas de TiO₂ viéndose cómo cuanto mayor es la cantidad de relleno mayor es la dispersión en los datos. Esta observación puede explicarse considerando que cuanto mayor es el contenido de partículas de TiO₂ más pequeña es la cantidad de polímero utilizado para una misma cantidad de muestra. Por lo tanto, la absorbancia integrada debe ser cada vez menor lo que debe dar lugar a una disminución de la relación señal ruido que sin duda debe provocar, como así se observa, alta dispersión de datos en las muestras con mayor cantidad de relleno. Estos resultados impiden identificar



claramente las transiciones térmicas en las muestras con una mayor cantidad de nanorelleno.

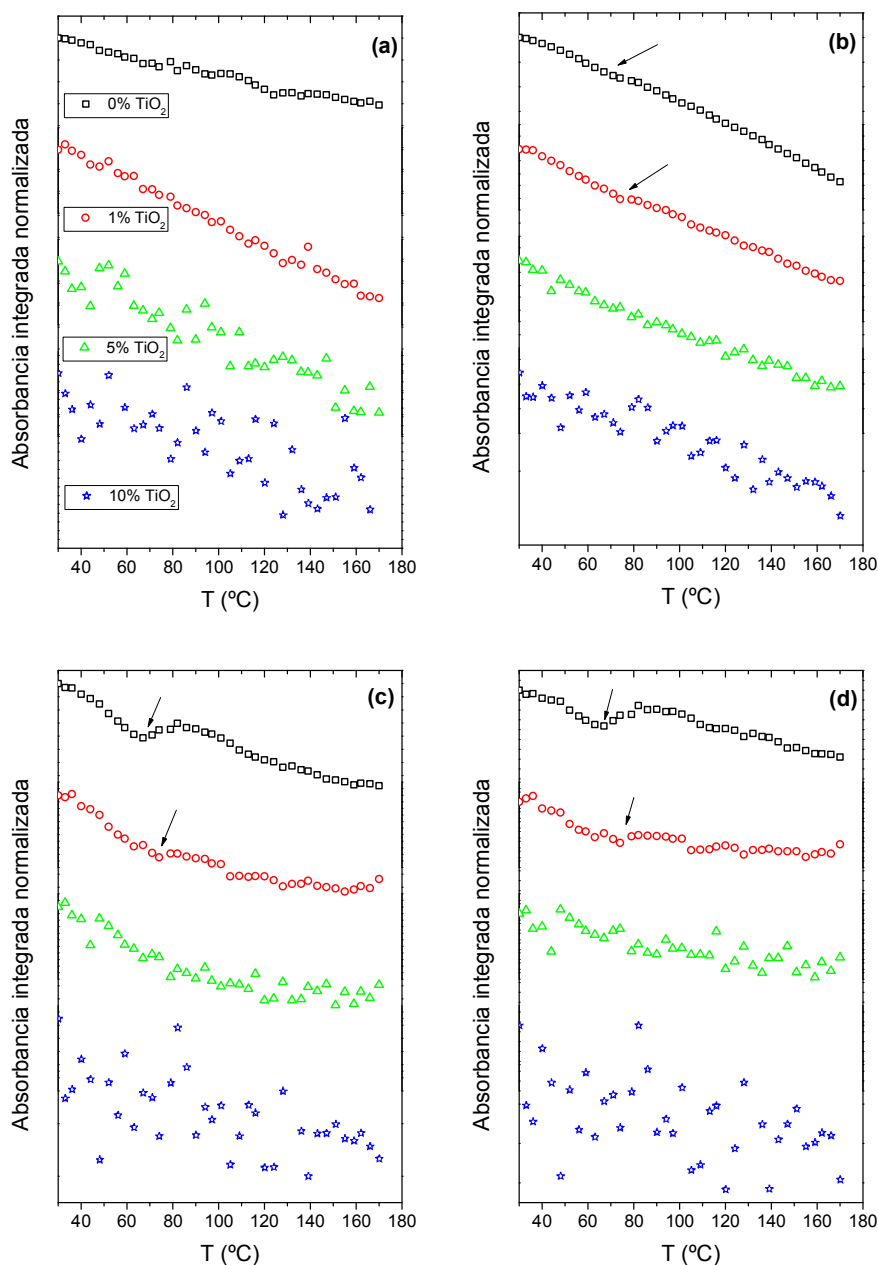


Figura 6.9.- Absorbancia integrada en función de la temperatura para las bandas: a) 4770 y 4725 cm⁻¹, b) 4438 cm⁻¹, c) 4307 cm⁻¹ y d) 4255 cm⁻¹ para todos los sistemas bajo estudio (0, 1, 5 y 10% en peso de TiO₂ con tamaño de nanopartículas < 100 nm).

Por otra parte, se obtuvieron resultados interesantes a partir de las muestras con menor cantidad de nanopartículas. Se observó un aumento de aproximadamente 10 °C en la

temperatura de transición vítrea cuando se utilizó 1% en peso de nanopartículas de TiO₂ al PLA puro. Estos resultados sugieren una restricción en el movimiento de la cadena de PLA debido a la presencia de nanopartículas de TiO₂, que podría ser la causa de las interacciones específicas encontradas entre los grupos carbonilo del polímero y las nanopartículas.

Por otra parte, se observaron pocos cambios en las transiciones térmicas en las Figuras 6.9 (a) y (b) si se compara con la Figura 6.9 (c) y (d) sin observarse ninguna interacción. Las bandas 4770 y 4725 cm⁻¹ parecen no ser lo suficientemente sensibles como para detectar transiciones térmicas debido a la presencia de nanopartículas de TiO₂, sin embargo, las bandas 4438, 4307 y 4255 cm⁻¹ son sensibles a la presencia de las nanopartículas, al menos hasta el 1% en peso de nanopartículas siendo las tres bandas el resultado de la combinación de modos de vibración de grupos metilo. De hecho, en la Figura 6.9 (c) y (d) se observaron cambios significativos, para los modos de vibración en flexión de grupos metilo. Como se observó anteriormente, estos resultados indican que los grupos metilo se encuentran en estrecho contacto en las cadenas durante las transiciones térmicas. En general, los fenómenos de relajación térmica implican una variación en la densidad del polímero [11,41,42].

Efecto del tamaño de nanopartículas

Por otra parte, con el fin de comparar la influencia de la presencia y tamaño de las nanopartículas de TiO₂ a una temperatura específica (30, 82 y 170 °C), se utilizó la espectroscopia de correlación 2D para comprender los posibles cambios que surgen en la estructura del PLA debido a las interacciones específicas con nanorellenos, en este caso con tamaño de nanopartículas de TiO₂ de 21 nm.

La Figura 6.10, 6.11 y 6.12 se ilustran los espectros de correlación 2D en tres regiones del infrarrojo cercano, NIR, variándose el contenido de nanopartículas de TiO₂ con diámetro medio de 21 nm (0, 1, 5 y 10%) a una temperatura de 82 °C. Los resultados



obtenidos para el resto de las temperaturas (30 - 170 °C) fueron similares. Estos resultados son parecidos a los observados en las Figuras 6.6, 6.7 y 6.8.

En la Figura 6.10 se presentan los mapas de correlación para la región que va desde 4490 cm⁻¹ a 4330 cm⁻¹ donde se muestran correlaciones entre las bandas 4438 y 4372 cm⁻¹, viéndose una correlación positiva sin observarse ningún desdoblamiento de bandas.

Nuevamente, en el espectro asíncrono correspondiente de la Figura 6.10 (b) se observa un patrón con “forma de mariposa” similar al observado en la Figura 6.7 (b). Este patrón característico se debe a un ligero desplazamiento de las bandas unido a cambios en las intensidades (uno va más rápido que el otro). Esto indica que no se producen nuevas interacciones específicas con los grupos CH₃ ya que sus modos de vibración no varían de la misma manera y sólo se produce una disminución proporcional de la absorbancia debido a una disminución de la concentración de los grupos absorbentes de PLA cuando el contenido de nanopartículas de TiO₂ aumenta.

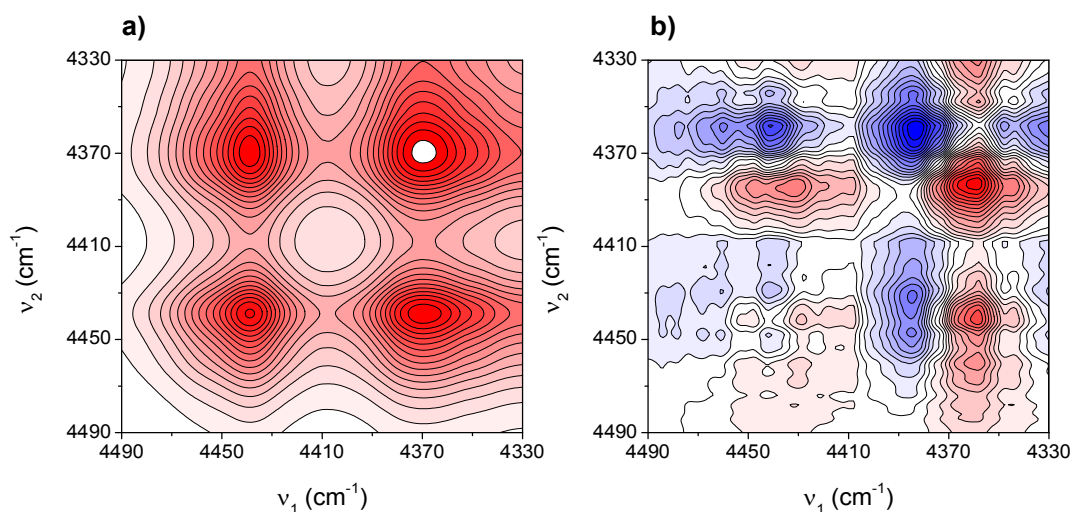


Figura 6.10.- Diagramas de correlación de espectros 2D para el PLA a una temperatura de 82 °C en la región del NIR entre 4490-4330 cm⁻¹ en función del contenido de TiO₂ con tamaño de nanopartículas de 21 nm: a) síncrono y b) asíncrono.

En la Figura 6.11 se consideran las correlaciones en función de la cantidad de nanopartículas para las bandas 4770, 4725 y 4438 cm⁻¹. Se puede observar una

correlación positiva entre las bandas sin producirse ningún desdoblamiento de las mismas aunque con menor intensidad si la comparamos con la muestra con nanopartículas de TiO₂ de tamaño de próximo a 100 nm. Por lo tanto y siguiendo la regla de Noda, es posible observar en el espectro asíncrono de la Figura 6.11 (b) que las variaciones de la banda centrada a 4438 cm⁻¹ son más rápidas que las correspondientes a las bandas centradas a 4770 y 4725 cm⁻¹ respectivamente. Estos resultados demuestran que la presencia de las nanopartículas de TiO₂ influye de una manera distinta sobre el grupo metilo que sobre en el grupo carbonilo.

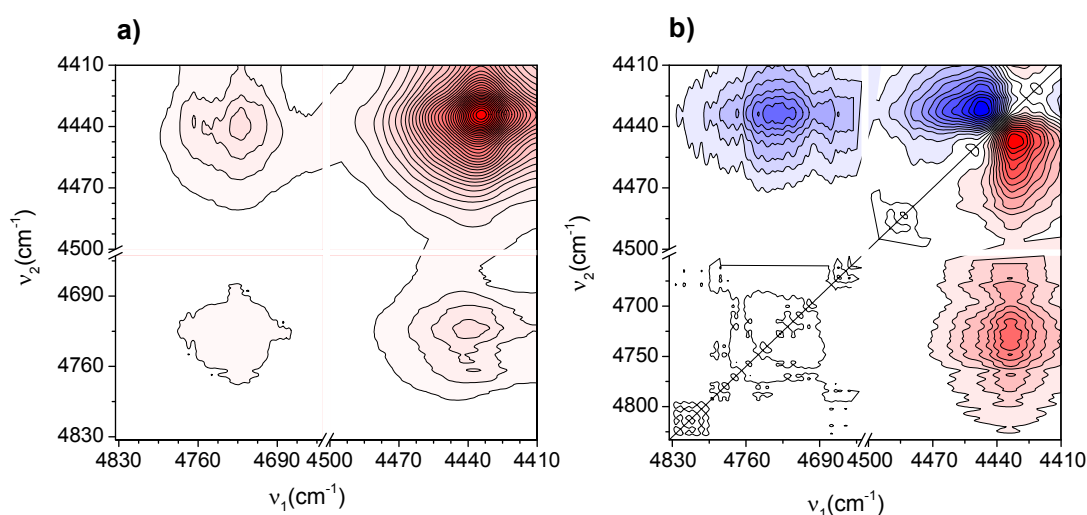


Figura 6.11.- Diagramas de correlación de espectros 2D para el PLA a una temperatura de 82 °C en la región del NIR entre 4830-4410 cm⁻¹ en función del contenido de TiO₂ con tamaño de nanopartículas de 21 nm: a) síncrono y b) asíncrono.

En la Figura 6.12 se consideran las correlaciones entre las bandas a 4770, 4725 y 4372 cm⁻¹. Se observó cómo estas bandas se correlacionan de la misma manera a como se produjo entre las bandas de 4770, 4725 y 4438 cm⁻¹ en la Figura 6.11, es decir, en el espectro de correlación síncrono (Figura 6.12 (a)) se observan picos de correlación positivos, indicando que las intensidades de las bandas a 4770-4725 y 4372 cm⁻¹ varían en la misma dirección. Si comparamos lo observado en la Figura 6.12 (a) con la muestra con nanopartículas de TiO₂ de tamaño de aproximadamente 100 nm de diámetro (véase Figura 6.8) se obtiene información similar, observándose una menor intensidad en los espectros de correlación 2D de la Figura 6.12 (a). A partir del espectro de correlación



asíncrono, Figura 6.12 (b), se puede concluir que los cambios que ocurren a 4770 y 4725 cm⁻¹ son más lentos que los observados a 4372 cm⁻¹.

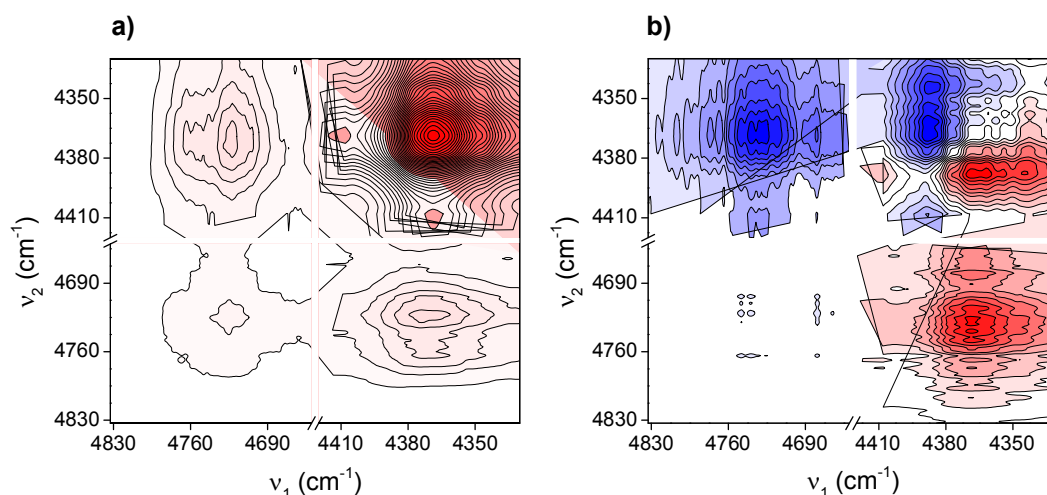


Figura 6.12.- Diagramas de correlación de espectros 2D para el PLA a una temperatura de 82 °C en la región del NIR entre 4830-4330 cm⁻¹ en función del contenido de TiO₂ con tamaño de nanopartículas de 21 nm: a) síncrono y b) asíncrono.

Finalmente, y con el fin de realizar las comparaciones pertinentes se llevó a cabo un estudio sobre la influencia del tamaño de las nanopartículas de TiO₂ (21 nm) en la dinámica del PLA a partir de los espectros obtenidos en el NIR durante un calentamiento de 30 a 170 °C y a una velocidad de 2 °C/min para los distintos sistemas con diferentes contenidos de TiO₂ (0, 1, 5 y 10%). En este caso sólo se consideró la absorbancia integrada para las bandas 4770 y 4725, 4438, 4307, 4255 cm⁻¹ en función de la temperatura que se ilustran en la Figura 6.13.

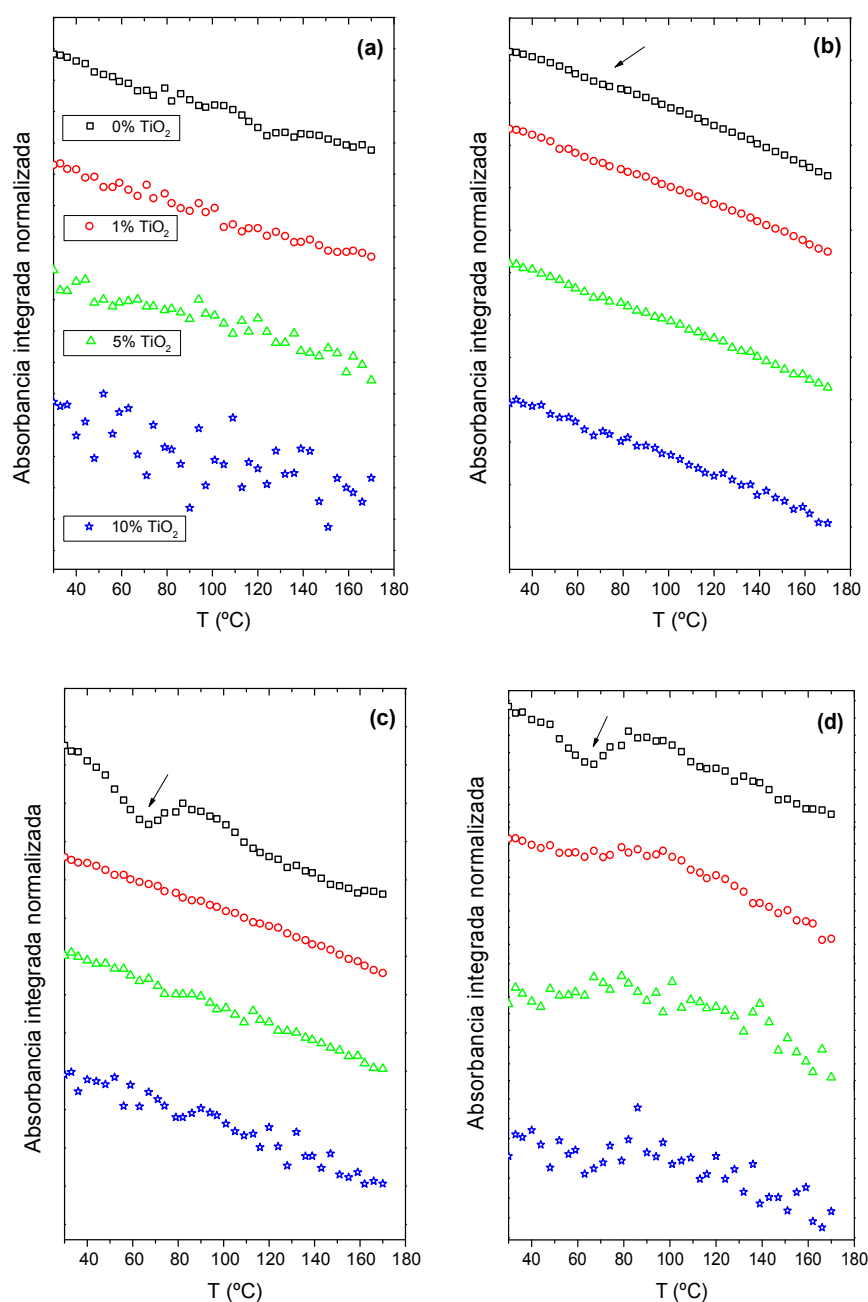


Figura 6.13.- Absorbancia integrada en función de la temperatura para las bandas: a) 4770 y 4725 cm⁻¹, b) 4438 cm⁻¹, c) 4307 cm⁻¹ y d) 4255 cm⁻¹ para todos los sistemas bajo estudio (0, 1, 5 y 10% en peso de TiO₂ con tamaño de nanopartículas de 21 nm).

Se obtuvieron resultados similares para las muestras nanocompuestas con diferentes tamaños de nanopartículas independientemente de la banda seleccionada. En general la absorción disminuye con la temperatura (sin importar el contenido y tamaño de nanopartículas de TiO₂) y cuanto mayor sea la cantidad de relleno más se dispersan los



datos. Esta observación puede explicarse teniendo en cuenta que cuanto mayor sea el contenido de partículas de TiO₂ más pequeña es la cantidad de polímero utilizado para la misma cantidad de muestra. Por lo tanto, la absorbancia integrada es consecuencia de la disminución de la relación señal ruido que sin duda provoca que la alta dispersión observada para las muestras con mayor porcentaje de relleno

En general se observaron pocos cambios en las transiciones en la Figura 6.13. Se observó un aumento en la temperatura de transición vítrea para la muestra con 1% en peso de nanopartículas de TiO₂ respecto al PLA puro. Estos resultados sugieren una restricción en el movimiento de la cadena de PLA debido a la presencia de nanopartículas de TiO₂ sin importar el tamaño, lo cual podría ser la causa de las interacciones específicas encontradas entre los grupos carbonilo del polímero y las nanopartículas.

6.4.- Conclusiones parciales

- ✚ En este capítulo se ha estudiado el efecto de la presencia de las nanopartículas de TiO₂ en la dinámica del PLA y nanocompuestos de PLA/TiO₂ mediante espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier en la región del infrarrojo cercano, FT-NIR. La evolución de la absorbancia en determinadas bandas, la energía media de sus absorciones ($\langle \nu \rangle$, cm⁻¹) y el análisis bidimensional o espectroscopía infrarroja de correlación en dos dimensiones (2D) en función de la temperatura y contenido de nanopartículas de TiO₂ se utilizó para estudiar la precisión de las interacciones, dinámica y cambios en el PLA.
- ✚ Las transiciones térmicas asociadas a la temperatura de transición vítrea ($T_g \sim 64$ °C) y temperatura de cristalización en frío ($T_{cc} \sim 123$ °C) fueron claramente identificadas a partir del análisis de la absorbancia integrada de las diferentes bandas analizadas. Las bandas de absorción 4770 y 4725 cm⁻¹ mostraron mayor sensibilidad a los cambios de temperatura y por lo tanto, presentan una mayor participación de la fase amorfa en donde los cambios de la densidad con la temperatura se dan más rápidos. La banda 4438 cm⁻¹, mostró una mejor definición de las transiciones térmicas en relación con la formación de la fase cristalina. Asimismo, se observaron cambios

significativos en las bandas 4307 y 4255 cm⁻¹ asociadas a los modos de vibración en aleteo C-H, lo que indica que las transiciones se producen debido a los cambios conformacionales en la cadena principal.

- ✚ La correlación 2D se realizó en función del contenido de nanopartículas de TiO₂ (0, 1, 5 y 10%) a tres temperaturas (30, 82 y 170 °C), respectivamente. Los resultados parecen indicar que el grupo carbonilo interactúa específicamente con las nanopartículas de TiO₂. Se observó un aumento aproximado de 10 °C en la temperatura de transición vítrea de las muestras nanocompuestas con 1% en peso de nanopartículas de TiO₂. Este resultado muestra una restricción en el movimiento de la cadena de PLA en presencia de las nanopartículas de TiO₂, que podría ser causado por las interacciones específicas encontradas entre los grupos carbonilo del polímero y las nanopartículas. Los resultados de este estudio también sugieren que el método no es lo suficientemente sensible para las muestras nanocompuestas de PLA/TiO₂ con altos contenidos en carga de TiO₂ porque disminuye la cantidad de polímero y la dispersión de los datos aumenta.



REFERENCIAS

- [1] MasPOCH ML, Nascimento L, Gamez-Perez J, Santana O. Comportamiento a fractura de nanocompuestos en base poli(ácido láctico) y montmorillonita organomodificada (PLA/OMMT). *An Mecánica La Fract* 2009;1:232–7.
- [2] Olmos D, Martín E V., González-Benito J. New molecular-scale information on polystyrene dynamics in PS and PS–BaTiO₃ composites from FTIR spectroscopy. *Phys Chem Chem Phys* 2014;16:24339–49. doi:10.1039/C4CP03516J.
- [3] Madejová J. FTIR techniques in clay mineral studies. *Vib Spectrosc* 2003;31:1–10. doi:10.1016/S0924-2031(02)00065-6.
- [4] Tyagi B, Chudasama CD, Jasra R V. Determination of structural modification in acid activated montmorillonite clay by FT-IR spectroscopy. *Spectrochim Acta - Part A Mol Biomol Spectrosc* 2006;64:273–8. doi:10.1016/j.saa.2005.07.018.
- [5] González-Benito J, González-Gaitano G. Interfacial conformations and molecular structure of PMMA in PMMA/silica nanocomposites. Effect of high-energy ball milling. *Macromolecules* 2008;41:4777–85. doi:10.1021/ma800260k.
- [6] Robertson CG, Lin CJ, Rackaitis M, Roland CM. Influence of particle size and polymer-filler coupling on viscoelastic glass transition of particle-reinforced polymers. *Macromolecules* 2008;41:2727–31. doi:10.1021/ma7022364.
- [7] Liang X, Huang D. New insights into the effects of physical aging on glass transition of polystyrene by FTIR. *J Macromol Sci Part B Phys* 2012;348–57. doi:10.1080/00222348.2011.596796.
- [8] Koenig JL. *Vibrational Spectroscopy of Polymers*. Spectrosc. Polym. Second Edi, New York: Elsevier Science; 1999, p. 35–76.
- [9] González-Benito J. The nature of the structural gradient in epoxy curing at a glass fiber/epoxy matrix interface using FTIR imaging. *J Colloid Interface Sci* 2003;267:326–32. doi:10.1016/S0021-9797(03)00550-2.
- [10] González-Benito J, Mike F, Baselga J, Lemetyinem H. Fluorescence method using labeled chromophores to study the curing kinetics of a polyurethane system. *J Appl Polym Sci* 2002;86:2992–3000. doi:10.1002/app.11281.
- [11] Sanchez FA, Redondo M, Olmos D, Kuzmanovic M, González-Benito J. A near-infrared spectroscopy study on thermal transitions of PMMA and PMMA/SiO₂

- nanocomposites. *Macromol Symp* 2014;339:48–59.
doi:10.1002/masy.201300137.
- [12] Ozaki Y, Siesler HW, Kawata S, Heise HM. *Near-Infrared Spectroscopy. Principles, Instruments, Applications*. Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag GmbH; 2002.
- [13] Ozaki Y, Murayama K, Wang Y. Application of two-dimensional near-infrared correlation spectroscopy to protein research. *Vib Spectrosc* 1999;20:127–32. doi:10.1016/S0924-2031(99)00030-2.
- [14] Wu P, Siesler HW. The assignment of overtone and combination bands in the near infrared spectrum of polyamide 11. *J Near Infrared Spectrosc* 1999;7:65–76. doi:10.1255/jnirs.236.
- [15] Wang J, Sowa MG, Ahmed MK, Mantsch HH. Photoacoustic Near-Infrared Investigation of Homo-Polypeptides 11. *J Phys Chem* 1994;98:4748–55.
- [16] Olmos D, Aznar a. J, Baselga J, González-Benito J. Kinetic study of epoxy curing in the glass fiber/epoxy interface using dansyl fluorescence. *J Colloid Interface Sci* 2003;267:117–26. doi:10.1016/S0021-9797(03)00620-9.
- [17] Castrillo PD, Olmos D, Torkelson JM, González-Benito J. Kaolin-epoxy-based nanocomposites: A complementary study of the epoxy curing by FTIR and fluorescence. *Polym Compos* 2010;31:781–91. doi:10.1002/pc.20860.
- [18] Olmos D, Loayza A, González-Benito J. Phase-separation process in a poly(methyl methacrylate)-modified epoxy system: A novel approach to understanding the effect of the curing temperature on the final morphology. *J Appl Polym Sci* 2010;117:2695–706. doi:10.1002/app.31060.
- [19] Olmos D, López-Morón R, González-Benito J. The nature of the glass fibre surface and its effect in the water absorption of glass fibre/epoxy composites. The use of fluorescence to obtain information at the interface. *Compos Sci Technol* 2006;66:2758–68. doi:10.1016/j.compscitech.2006.03.004.
- [20] Noda I. Generalized two-dimensional correlation method applicable to infrared, Raman, and other types of spectroscopy. *Appl Spectrosc* 1993;47:1329–36. doi:10.1366/0003702934067694.
- [21] Noda I. Two-Dimensional Infrared Spectroscopy. *J Am Chem Soc* 1989;111:8116–8.



- [22] Noda I. Two-dimensional infrared (2-D IR) spectroscopy of synthetic and biopolymers. *Bull Am Phys Soc* 1986;31:520.
- [23] Noda I. Two-Dimensional Infrared (2D IR) Spectroscopy: Theory and Applications. *Appl Spectrosc* 1990;44:550–61.
- [24] Noda I, Liu Y, Ozaki Y. Two-dimensional correlation spectroscopy study of temperature-dependent spectral variations of N-methylacetamide in the pure liquid state .1. Two-dimensional infrared analysis. *J Phys Chem* 1996;100:8665–73.
- [25] Noda I, Liu Y, Ozaki Y. Two-dimensional correlation spectroscopy study of temperature-dependent spectral variations of N-methylacetamide in the pure liquid state .2. Two-dimensional Raman and infrared-Raman heterospectral analysis. *J Phys Chem* 1996;100:8674–8668.
- [26] Noda I, Liu Y, Ozaki Y, Czarnecki MA. Two-dimensional Fourier transform near-infrared correlation spectroscopy studies of temperature-dependent spectral variations of oleyl alcohol. *J Phys Chem* 1995;99:3068–73.
- [27] Jiang H, Wu P, Yang Y. Variable temperature FTIR study of poly(ethylene-co-vinyl alcohol)-graft-poly(ε-caprolactone). *Biomacromolecules* 2003;4:1343–7. doi:10.1021/bm0341069.
- [28] Reich G. Near-infrared spectroscopy and imaging: basic principles and pharmaceutical applications. *Adv Drug Deliv Rev* 2005;57:1109–43. doi:10.1016/j.addr.2005.01.020.
- [29] Shinzawa H, Nishida M, Tanaka T, Kanematsu W. Thermal behavior of drawn poly(lactic acid)-nanocomposite fiber probed by near-infrared hyperspectral imaging based on roundtrip temperature scan. *Anal Methods* 2012;4:2259–65. doi:10.1039/c2ay25204j.
- [30] Shinzawa H, Murakami TN, Nishida M, Kanematsu W, Noda I. Near-infrared (NIR) imaging analysis of polylactic acid (PLA) nanocomposite by multiple-perturbation two-dimensional (2D) correlation spectroscopy. *J Mol Struct* 2014;1069:171–5. doi:10.1016/j.molstruc.2014.03.014.
- [31] Zhang J, Sato H, Tsuji H, Noda I, Ozaki Y. Infrared spectroscopic study of CH₃...O=C interaction during poly(L-lactide)/poly(D-lactide) stereocomplex formation.

- Macromolecules 2005;38:1822–8. doi:10.1021/ma047872w.
- [32] Noda I. Determination of Two - Dimensional Correlation Spectra Using the Hilbert Transform. Appl Spectrosc 2000;54:994–9. doi:10.1366/0003702001950454.
- [33] Noda I, Dowrey AE, Marcott C, Story GM. Generalized two-dimensional correlation spectroscopy. Appl Spectrosc 2000;54:236A – 248A.
- [34] Smirnova DS, Kornfield JA, Lohse DJ. Morphology Development in Model Polyethylene via Two-Dimensional Correlation Analysis. Macromolecules 2011;44:6836–48. doi:dx.doi.org/10.1021/ma200774u.
- [35] Czarnecki MA, Wu P, Siesler HW. 2D FT-NIR and FT-IR correlation analysis of temperature-induced changes of nylon 12. Chem Phys Lett 1998;283:326–32.
- [36] Czarnecki M A. Interpretation of two-dimensional correlation spectra: Science or art? Appl Spectrosc 1998;52:1583–90. doi:10.1366/0003702981943086.
- [37] Czarnecki M a. Two - Dimensional Correlation Spectroscopy: Effect of Band Position, Width, and Intensity Changes on Correlation Intensities. Appl Spectrosc 2000;54:986–93.
- [38] Mikeš F, González-Benito F, Serrano B, Bravo J, Baselga J. Fluorescence monitoring of polymerization reaction. A new method for treating fluorescence experimental data. Polymer (Guildf) 2002;43:4331–9. doi:10.1016/S0032-3861(02)00296-3.
- [39] Coates J. Interpretation of Infrared Spectra, A Practical Approach. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd; 2000. doi:10.1002/9780470027318.
- [40] Zhang J, Tsuji H, Noda I, Ozaki Y. Structural changes and crystallization dynamics of poly(L-lactide) during the cold-crystallization process investigated by infrared and two-dimensional infrared correlation spectroscopy. Macromolecules 2004;37:6433–9. doi:10.1021/ma049288t.
- [41] Olmos D, García-Lopez a., González-Benito J. Detection in a single experiment of thermal transitions of the constituents in PS/BaTiO₃ composites. Mater Lett 2013;97:8–10. doi:10.1016/j.matlet.2012.11.059.
- [42] Zhang J, Tsuji H, Noda I, Ozaki Y. Weak intermolecular interactions during the melt crystallization of Poly (L-lactide) investigated by two-dimensional infrared correlation spectroscopy. J Phys Chem B 2004;108:11514–20.

Capítulo 7

Conclusiones

7.1 Conclusiones	7-3
------------------------	-----

7.1.- Conclusiones

En este trabajo se han preparado películas biodegradables basadas en ácido poliláctico (PLA) rellenas con nanopartículas de caolín y dióxido de titanio (TiO_2). En el primer sistema se estudió un método de preparación de los materiales cuya principal novedad es la realización de una mezcla previa de los componentes basada en molienda de bolas de alta energía, HEBM. Los materiales asociados al segundo sistema se prepararon a partir de un proceso previo de disolución y posterior evaporación del disolvente. Los materiales nanocompuestos preparados se han caracterizado desde un punto de vista morfológico, estructural y térmico, y se ha evaluado su comportamiento en servicio frente a la proliferación de biopelículas bacterianas procedentes del crecimiento de *Pseudomonas fluorescens* en su superficie.

En los sistemas de PLA/Caolín se observó que la molienda mecánica en condiciones criogénicas mejora la dispersión de la fase inorgánica (nanopartículas) frente a la molienda a temperatura ambiente.

La caracterización por DRX mostró que se producía una disminución en la cristalinidad de las muestras cuando se utilizan tiempos largos de molienda y condiciones criogénicas.

En general no se observaron cambios significativos en la temperatura de transición vítrea (T_g) de los distintos materiales preparados. Tampoco se observaron grandes diferencias en las temperaturas de cristalización (T_c) y de fusión (T_m). Las muestras que presentan un mayor grado de cristalinidad son las preparadas en condiciones de molienda criogénica.




En los estudios de degradación térmica se observó que la presencia del caolín disminuye ligeramente la temperatura de degradación de los materiales compuestos con respecto a las muestras de PLA puro bajo las mismas condiciones de procesado.

En relación a la formación de biopelículas en la superficie de los materiales compuestos seleccionados (PLA; PLA-C1F y PLA-C1KF) parece que los cambios en el desarrollo de biopelículas de *Pseudomonas fluorescens* en este tipo de materiales podrían estar relacionados con la estructura del material, siendo las estructuras más ordenadas aquellas que favorecen la adhesión y posterior proliferación bacteriana.

En relación a los sistemas de PLA modificados con nanopartículas de TiO₂ se pueden destacar los siguientes puntos:

- ✚ La cristalinidad del PLA disminuye a medida que aumenta el contenido de partículas si se compara con las muestras de PLA-0 y TiO₂, siendo ligeramente menor para las muestras con partículas de mayor tamaño (~ 100 nm).
- ✚ La adición de las nanopartículas de TiO₂ a la matriz polimérica no produjo cambios significativos en las temperaturas características correspondientes a las distintas transiciones térmicas de la matriz en los materiales compuestos.
- ✚ Las entalpías asociadas al proceso de fusión y de cristalización así como sus porcentajes de cristalinidad, tienden a aumentar significativamente en función del tamaño y porcentaje de nanorelleno. Se observa un aumento notable para las muestras con 10 y 20% de TiO₂-100.
- ✚ En la mayoría de los materiales, las temperaturas de degradación de los materiales nanocompuestos PLA/TiO₂ fueron ligeramente superiores a la temperatura de degradación del PLA puro (PLA-0).
- ✚ Las mejoras significativas en el módulo y el límite elástico del PLA confirman claramente el efecto reforzante de las partículas de TiO₂ en los materiales con un porcentaje de relleno de 1 y 5%, que se atribuye a la buena distribución y orientación de las partículas en la matriz polimérica. Sin embargo, existe una

pérdida en las propiedades de tracción para las muestras con un 10% en peso de TiO_2 .

-  La presencia de nanopartículas de TiO_2 disminuye la capacidad de desarrollo de los biofilms de *E. coli* (DH5 α^{TM}). Esta disminución parece deberse a un ataque directo sobre el metabolismo de las bacterias y al efecto catalítico del TiO_2 . En relación a la morfología de las bacterias se observó que las bacterias generadas sobre nanocompuestos con nanopartículas de menor tamaño, $\phi \sim 21$ nm son aún menores que las generadas en las nanopartículas de diámetro ~ 100 nm lo que induce a pensar que el tamaño de las nanopartículas influye en el desarrollo bacteriano.
-  Por último, el empleo de la espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier en el IR cercano (FTNIR) mediante el análisis de la absorbancia, energía promedio de las bandas y los espectros de correlación 2D en función de la temperatura sirvió para estudiar la dinámica molecular del PLA en términos de sus transiciones térmicas. Además, un análisis detallado de las bandas permitió identificar bandas asociadas a regiones predominantemente amorfas del polímero (las centradas a 4770 y 4725 cm^{-1}) que presentaron una mayor sensibilidad a cambios con la temperatura y bandas asociadas a regiones predominantemente cristalinas, como por ejemplo banda centrada a 4438 cm^{-1} .
-  El estudio del efecto de la presencia de las nanopartículas de TiO_2 parece indicar que el grupo carbonilo interactúa específicamente con las nanopartículas de TiO_2 , observándose un aumento aproximado de 10 °C en la temperatura de transición vítrea de las muestras nanocompuestas con 1% en peso de nanopartículas de TiO_2 .

Como conclusión global del presente trabajo se puede indicar que las mezclas de PLA con partículas demostraron su alto potencial como materiales destinados al empaquetado de alimentos de alta sostenibilidad medioambiental.

Anexos



Anexo 1



NatureWorks® PLA Polymer 7032D Injection Stretch Blow Molded Bottles

NatureWorks® PLA polymer 7032D, is a bottles grade resin designed for injection stretch blow molded applications where heat setting is needed. PLA polymer 7032D can be run on conventional ISBM equipment. 7032D is typically run at lower processing temperatures than bottle grade PET.

Applications

Injection Stretch Blow Molded Bottles for 1:2 stage operations. Ideal for applications where heat setting is required such as:

- Fruit juices
- Sports drinks
- Jams and Jellies

Preform Design

Preform design is critical in getting a container with good clarity and physical properties. Designing a preform for use as a PLA container is, to an extent, specific to the blow mold equipment, bottle design, and mold tooling. As a starting point, however, designing a preform with an areal (axial x hoop) stretch ratio (SR) of 8-11, an axial SR of 2-3, and a hoop SR of 4-5, should allow for the blow molding of the desired container. A preform designed with a thinner endcap might also be desired in order to prevent excess material accumulating in the base of the blown container.

Injection Molding of Preforms

A general-purpose screw designed to minimize residence time and shear is recommended. Please see table below.

Typical Material & Application Properties ⁽¹⁾		
Physical Properties	PLA Polymer 7032D	ASTM Method
Specific Gravity	1.24	D792
Melt Density (230°C)	1.08-1.12	D1238
Glass Transition Temperature	130-140°F (55-60°C)	D3417
Crystalline Melt Temperature	320°F (160°C)	D3418
Transmission Rates	Oxygen 550 cc-mil/m2/24hr-atm Carbon Dioxide 3000 cc-mil/m2/24hr-atm Water Vapor 325 g-mil/m2/24hr-atm	D1434 D1434 E96
MFR (210°C g/10min)	5-15	D1238A and B
Blow molding/Heat Setting Specifications		
Preform Temperature	80-100°C (Maximize temperature while keep good material distribution)	
Stretch Rod Speed	0.8-1.2 m/second (Balayage rod required)	
Blow Mold Temperature	212-148°F (100-120°C) Optimize for production rate and heat set quality.	

Nominal Processing Parameters		
Melt Temperature	390-430°F	200-220°C
Feed Throat	70°F	20°C
Feed Section	355°F	180°C
Compression Section	410°F	210°C
Metering Section	410-430°F	210-220°C
Nozzle	410-430°F	210-220°C
Mold	70-100°F	21-38°C
Back Pressure	100-200psi	
Mold Shrinkage	0.004 in/in. +/- .001	

* Note: These are starting points and may need to be optimized. It is very important to optimize back-pressure, process temperature, mold temperature, and injection speed such that the cycle time and the internal stresses in the finished part are kept to a minimum. This will help keep the shrinkage of the preform upon re-heating to the lowest level possible while keeping preform production as high as possible. Using a hot runner system in the injection-molding step is also recommended to help keep shear stress and preform shrinkage to a minimum.

Re-heating of Preforms

The heating of the preforms is critical in getting a container with good clarity and material distribution.

Normal preform temperatures for running on a 2-step process have been between 80-100°C. This temperature may be lower or higher depending on the preform design, bottle design, and re-heating equipment that are being used. It is recommended that a reheat additive be used in order to minimize pearlescence

and optimize material distribution

Bottle Design

The performance of a heat set bottle utilizes the attributes of a good bottle design, which considers the following:

- Vacuum relief
- Reinforcement
- Base structure
- Finish stability
- Weight, wall thickness, and material distribution

All of these features help improve vacuum resistance, prevents bottle panels from collapsing and ovalization to occur, minimizes shrinkage, and improves top load strength.

NatureWorks® PLA-Polymer 7032D

The finish and base areas of the bottle may still be sensitive to heat since they haven't been stretched. For example, bottles used for hot fill applications usually have a high push-up on the base and ribbing for stabilization. NatureWorks PLA bottles have been found to work well with typical PET heat set bottle designs. The base of any given bottle has a thicker material distribution than the sidewall. This thick area in the bottle needs to be distributed well and cooled quickly. A base design that includes ribs and a high pushup for reinforcement is recommended.

Blow Molding Container

Processing NatureWorks PLA 7032D for heat setting requires attention to preform temperature, mold temperature, material distribution. In terms of production rates, maximizing mold residence time improves PLA heat set bottle performance. One will need to optimize production rate while maintaining the dimensional stability requirements of the filling process.

Process Details

Startup and Shutdown

PLA polymer is not compatible with a wide variety of resins, and special purging sequences should be followed:

1. At normal operating temperatures for current polymer in injection molder, purge with polypropylene (PP) or polyethylene (PE), preferably starting with a low MI (high viscosity) PP, switching to a high MI (low viscosity) PP.
2. Bring injection molder to steady state at normal operating temperatures for PLA (listed on reverse side) while running PP.
3. Vacuum out hopper system and any other potential points where contamination could occur.
4. Introduce PLA resin into the injection molder at the recommended operating temperatures-see operating temperatures, listed on reverse side.
5. It will be obvious when pure 7032D is being extruded, as it gives a clear, steady melt.
6. At shutdown, purge machine with a high-viscosity resin, such as PP.

Note: If transitioning from PET to PLA polymer, it is advised to first transition from these materials to a low melt index (higher viscosity), PP or PE. Follow this transition with one to a higher MI (lower viscosity) PP or PE. Next, lower temperatures to recommended PLA temperatures, then start feeding PLA into the process.

Drying

In-line drying capabilities are essential to process PLA 7032D, which is supplied with a moisture content of less than 0.025% (250 ppm). The recommended moisture content to prevent viscosity degradation and possible lactide reformation is less than 0.010% (100ppm). Typical drying conditions for 7032D are 4 hours at 150°F-180°F with desiccated air that has a dew-point of at least -40°F, and an airflow rate of greater than 0.5 cfm/lb of pellets. The resin should not be exposed to atmospheric conditions after drying. Transfer lines and hoppers should be sealed or padded with inert gas. Keep resin package sealed until ready to use and promptly reseal packages of unused material.

*All NatureWorks LLC Product Stewardship information including global food contact compliance, global chemical registration, and other information pertaining to this product can be found in our product stewardship bulletin (PROST-001). Our job is to maintain an effective product stewardship program to ensure that our customers involved with our product receive sufficient information and training to store, use, and dispose of our product with no harm to human health or the environment. If you need further information regarding the toxicology or safe handling of our material please feel free to give us a call

NatureWorks® PLA-Polymer 7032D

Safety and Handling Considerations

Material Safety Data (MSD) sheets for PLA polymers are available from NatureWorks LLC. MSD sheets are provided to help customers safely their own handling, safety, and disposal needs, and those that may be required by locally applicable health and safety regulations, such as OSHA (U.S.A.), MAK (Germany), or WHMIS (Canada). MSD sheets are updated regularly; therefore, please request and review the most current MSD sheets before handling or using any product. The following comments apply only to PLA polymers, additives and processing aids used in fabrication and other materials used in finishing steps have their own safe-use profile and must be investigated separately.

Hazards and Handling Precautions

PLA polymers have a very low degree of toxicity and, under normal conditions of use, should pose no unusual problems from incidental ingestion, or eye and skin contact. However, caution is advised when handling, storing, using, or disposing of these resins, and good housekeeping and controlling of dusts are necessary for safe handling of product. Workers should be protected from the possibility of contact with molten resin during fabrication. Handling and fabrication of resins can result in the generation of vapors and dusts that may cause irritation to eyes and the upper respiratory tract. In dusty atmospheres, use an approved dust respirator. Pellets or beads may present a slipping hazard. Good general ventilation of the polymer processing area is recommended. At temperatures exceeding the polymer melt temperature (typically 170°C), polymer can release fumes, which may contain fragments of the polymer, creating a potential to irritate eyes and mucous membranes. Good general ventilation should be sufficient for most conditions. Local exhaust ventilation

is recommended for melt operations. Use safety glasses, if there is a potential for exposure to particles, which could cause mechanical injury to the eye. If vapor exposure causes eye discomfort, use a full-face respirator. No other precautions other than clean, body-covering clothing should be needed for handling PLA polymers. Use gloves with insulation for thermal protection when exposure to the melt is localized.

Combustibility

PLA polymers will burn. Clear to white smoke is produced when product burns. Toxic fumes are released under conditions of incomplete combustion. Do not permit dust to accumulate. Dust layers can be ignited by spontaneous combustion or other ignition sources. When suspended in air, dust can pose an explosion hazard. Firefighters should wear positive-pressure, self-contained breathing apparatuses and full protective equipment. Water or water fog is the preferred extinguishing medium. Foam, alcohol-resistant foam, carbon dioxide or dry chemicals may also be used. Soak thoroughly with water to cool and prevent re-ignition.

Disposal

DO NOT DUMP INTO ANY SEWERS, ON THE GROUND, OR INTO ANY BODY OF WATER. For unused or uncontaminated material, the preferred options include recycling into the process or sending to an industrial composting facility, if available; otherwise, send to an incinerator or other thermal destruction device. For used or contaminated material, the disposal options remain the same, although additional evaluation is required. (For example, in the U.S.A., see 40 CFR, Part 261, "Identification and Listing of Hazardous Waste.") All disposal methods must be in compliance with Federal, State/Provincial, and local laws and regulations.



Environmental Concerns

Generally speaking, lost pellets are not a problem in the environment except under unusual circumstances when they enter the marine environment. They are benign in terms of their physical environmental impact, but if ingested by waterfowl or aquatic life, they may mechanically cause adverse effects. Spills should be minimized, and they should be cleaned up when they happen. Pellets should not be discarded into the ocean or any other body of water.

Product Stewardship

NatureWorks LLC has a fundamental duty to all those that make and use our products, and for the environment in which we live. This duty is the basis for our Product Stewardship philosophy, by which we assess the health and environmental information on our products and their intended use, then take appropriate steps to protect the environment and the health of our employees and the public.

Customer Notice

NatureWorks LLC encourages its customers and potential users of its products to review their applications for such products from the standpoint of human health and environmental quality. To help ensure our products are not used in ways for which they were not intended or tested, our personnel will assist customers in dealing with ecological and product safety considerations. Your sales representative can arrange the proper contacts. NatureWorks LLC literature, including Material Safety Data sheets, should be consulted prior to the use of the company's products. These are available from your NatureWorks LLC representative.

NOTICE: No freedom from any patent owned by NatureWorks LLC or others is to be inferred. Because use conditions and applicable laws may differ from one location to another and may change with time, Customer is responsible for determining whether products and the information in this document are appropriate for Customer's use and for ensuring that Customer's workplace and disposal practices are in compliance with applicable laws and other governmental enactments. NatureWorks LLC assumes no obligation or liability for the information in this document. NO WARRANTIES ARE GIVEN; ALL IMPLIED WARRANTIES OF MERCHANTABILITY OR FITNESS FOR A PARTICULAR USE ARE EXPRESSLY EXCLUDED.

NOTICE REGARDING PROHIBITED USE RESTRICTIONS: NatureWorks LLC does not recommend any of its products, including samples, for use as: Components of, or packaging for, tobacco products; Components of products where the end product is intended for human or animal consumption; In any application that is intended for any internal contact with human body fluids or body tissues; As a critical component in any medical device that supports or sustains human life; In any product that is designed specifically for ingestion or internal use by pregnant women; and in any application designed specifically to promote or interfere with human reproduction.

For additional information in the U.S. and Canada,
call toll-free 1-877-423-7659
In Europe, call 31-(0)35-699-1344
In Japan, call 81-33-285-0824



NatureWorks and the NatureWorks logo are trademarks of NatureWorks LLC
Copyright © 2006 NatureWorks LLC

Anexo 2

38-4921		Wavelength= 1.54060				C
TiO ₂		Z ₀	Int.	h	k	l
Titanium Oxide		25.356	909*	1	0	1
		37.014	49	1	0	3
		37.847	159	0	0	4
Anatase, syn		38.844	89	1	1	2
		48.146	281	2	0	0
Ref.: CuKα1 λ: 1.54060 Filter: d-sp: Calculated		53.974	138	1	0	5
Cut off: 17.7 Int.: Calculated I/Corr.: 0.04		65.166	186	2	1	1
Ref.: Calculated from ICSD using POWDE-12++		62.242	19	2	1	3
Ref.: Lagrand, G., Delville, J., C. B. Hald. <i>Seamless Acad. Sci.</i> , 236, 244 (1962)		63.012	83	2	0	4
		68.879	47	1	1	6
		70.458	44	2	2	0
Sys.: Tetragonal S.G.: P4 ₁ /mm2 (141)		74.179	4	1	0	7
a: 3.777(8) b: c: 3.601(1) d: C: 2.6165		75.233	86	2	1	5
α: β: γ: Z: 4 mp:		79.231	18	3	0	1
Ref.: Ibid.		82.873	2	0	0	8
		82.387	4	3	0	3
		82.868	58	2	2	4
		83.325	12	3	1	2
Dx: 3.516 Dm: ICSD #: 976173						

Peak height intensity. PBC: 1112. No R value given. At least one IF missing. Mwt: 79.90. Volume[CC]: 135.54.

Anexo 3

38-4820		Wavelength= 1.54060				C
TiO ₂		Z _c	Int	h	k	l
Titanium Oxide		27.485	989*	1	1	0
		33.184	441	1	0	1
		38.277	81	2	0	0
Rutile, syn		41.338	189	1	1	1
		44.141	53	2	1	0
Ref.: CuKα1 λ: 1.54060 Filter: d-sp: Calculated		54.442	447	2	1	1
Cut off: 17.7 Int.: Calculated I/100: 3.49		68.787	185	2	0	0
Ref.: Calculated from ICSD using POWD-12++		68.884	58	0	0	2
Ref.: Laguard, G., Delville, J., G. B. Hebd. Semmes Acad. Sci.,		64.199	61	3	1	0
256, 244 (1968)		65.685	4	2	0	1
		68.188	185	3	0	1
Sys.: Tetragonal S.G.: P4 ₂ /mmn (136)		68.969	87	1	1	2
a: 4.584(8) b: c: 2.953(1) d: C: 0.6442		72.583	9	3	1	1
α: β: γ: Z: 2 mp:		74.085	2	3	0	0
Ref.: Hebd.		78.718	14	2	0	2
		82.022	7	2	1	2
		82.646	87	3	0	1
		84.489	19	4	0	0
Dx: 4.278 Dm: ICSD #: 076172		87.713	6	4	1	0
		88.780	41	2	2	2

Peak height intensity, PBC: 1P0, No R value given. At least one
 IF missing. Mwt: 78.90. Volume[Å³]: 62.05.



© 2008 ICDD—International Centre for Diffraction Data. All rights reserved.
 PCPDFWIN v. 2.3